

原子間力顕微鏡による高分子ナノスケール物性の研究

著者	梁 曉斌
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15587号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58823

博士論文

原子間力顕微鏡による高分子ナノスケール物性の研究

梁 暁斌

平成 2 5 年

本学位論文は、下記の原著論文を基に作成され、東北大学大学院理学研究科に提出されたものである。

- 1) Dong Wang, Xiao-Bin Liang, Yan-Hui Liu, So Fujinami, Toshio Nishi, Ken Nakajima, **Characterization of Surface Viscoelasticity and Energy Dissipation in a Polymer Film by Atomic Force Microscopy**. *Macromolecules* Vol. 44, pp 8693–8697, October, 2011.
- 2) Javier Ramón-Azcón, Samad Ahadian, Mehdi Estili, Xiaobin Liang, Serge Ostrovidov, Hirokazu Kaji, Hitoshi Shiku, Murugan Ramalingam, Ken Nakajima, Yoshio Sakka, Ali Khademhosseini, * Tomokazu Matsue. **Dielectrophoretically Aligned Carbon Nanotubes to Control Electrical and Mechanical Properties of Hydrogels to Fabricate Contractile Muscle Myofibers**. *Adv. Mater.* Vol. 25, pp 4028–4034, August, 2013.
- 3) Xiao-bin Liang, Dong Wang, Toshio Nishi, Xing-ping Qiu, Na Xue, Naoki Asao, Fumihiko Tanaka, Françoise M. Winnik and Ken Nakajima. **Nanofishing of a single polymer chain: temperature induced coil-globule transition of poly(N-isopropylacrylamide) chain in water**, submitted.
- 4) Xiao-bin Liang, Dong Wang, Toshio Nishi, Xing-ping Qiu, Na Xue, Naoki Asao, Fumihiko Tanaka, Françoise M. Winnik and Ken Nakajima, **Nanofishing of a single polymer chain: coil-globule transition of poly(N-isopropylacrylamide) chain in mixed water/methanol solutions**, submitted.
- 5) Xiaobin Liang, Dong Wang, Naoki Asao, Ken Nakajima, **Dynamic viscoelasticity of Single Polymer Chain investigated by Atomic Force Microscopy**, prepare.

目次

第 1 章 序論	1
1.1 はじめに	1
1.2 原子間力顕微鏡 (AFM)	3
1.3 AFM による高分子の物性評価	6
1.3.1 高分子 1 本鎖の力学物性	6
1.3.2 高分子 1 本鎖のダイナミクス力学物性	8
1.3.3 ナノ触診技術	9
1.4 本研究の目的	12
第 2 章 理論	16
2.1 単一高分子鎖の伸長理論	16
2.1.1 高分子の形態	16
2.1.2 高分子の伸長理論	23
2.2 一本鎖の動力学	29
2.2.1 Rouse 模型	29
2.2.2 良溶媒中の動的スケーリング鎖の易動度についての Kirkwood 近似	31
2.3 ポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM)	34
2.3.1 協同水和理論	34
2.3.2 競合的水素結合理論	37
2.4 ナノ力学分析の理論	39
2.4.1 タッピングモード	39
2.4.2 弾性体接触の理論	39
第 3 章 実験	45
3.1 原子間力顕微鏡 (AFM)	45
3.1.1 装置構成	45
3.1.2 カンチレバー	46
3.2 試料	48
3.2.1 ナノフィッシングの試料	48
3.2.2 ナノ力学物性の試料	51
3.2.3 測定用試料の調製	52
3.3 測定	54
3.3.1 フォースカーブ	54
3.3.2 ナノ触診 AFM	55

3.3.3 ナノフィッシング	55
3.3.4 動的ナノフィッシング	56
第4章 準静的ナノフィッシングによる PNIPAM と溶媒との相互作用解明	60
4.1 PNIPAM 一本鎖の伸長	61
4.1.1 典型的なフォースカーブ	61
4.1.2 プラトーカーブの解析	63
4.2 PNIPAM の感熱性	65
4.2.1 二種類フォースカーブ出現確立の温度依存性	65
4.2.2 分子鎖持続長の温度依存性	65
4.2.3 プラトーカの温度依存性	66
4.3 PNIPAM の共貧溶媒性	68
4.3.1 二種類フォースカーブ出現確立の溶媒依存性	68
4.3.2 分子鎖伸びきり鎖長の溶媒依存性	68
4.3.3 ナノフィッシング成功率の溶媒依存性	69
4.3.4 分子鎖持続長の溶媒依存性	70
4.4 結論	73
第5章 動的ナノフィッシングによる分子鎖のダイナミクスの解析	75
5.1 動的ナノフィッシングのモデル化についての計算	76
5.1.1 強制振動のカンチレバー	76
5.1.2 分子鎖の吸着のカンチレバー	78
5.2 一本鎖の粘弾性	80
5.2.1 一本鎖の伸長-粘弾性曲線	80
5.2.2 一本鎖粘弾性理論の検証	82
5.2.3 一本鎖の有効粘度	85
5.3 粘弾性の溶媒依存性	86
5.3.1 異なる溶媒における粘弾性	86
5.3.2 異なる溶媒における有効粘度	87
5.4 結論	89
第6章 表面エネルギー散逸と粘弾性仕事の定量的な評価	91
6.1 タッピングモードによるエネルギー散逸	92
6.1.1 位相像	92
6.1.2 エネルギー散逸	93
6.2 ナノ触診 AFM によるエネルギー散逸と粘弾性仕事	95

6.2.1 ナノ触診 AFM によるエネルギー散逸	95
6.2.2 ナノ触診 AFM による粘弾性仕事	96
6.3 結論	98
第7章 ナノ触診 AFM の応用	100
7.1 生体ハイブリッド材料の評価	100
7.1.1 背景	100
7.1.2 実験	100
7.1.3 結果	101
7.2 PPE/SBS の界面拡散	103
7.2.1 背景	103
7.2.2 実験	103
7.2.3 結果	104
7.3 結論	106
第8章 総括	108
8.1 総括	108
8.2 展望	109

第1章 序論

1.1 はじめに

図1-1に示したように、高分子材料のさまざまな巨視的物性が分子鎖の一次構造、二次構造および高次構造と密接に関連している。材料に対する機能化、高性能化の要求から、これらの階層構造を横断的に制御し、さらなる物性向上を達成することが求められている。しかしながらナノメートルスケールで複雑な相構造を有するこれらの高分子材料では、構造観察およびそこから構造制御へのフィードバックだけでは十分ではなく、階層的な各スケールでの物性情報の把握とそこから巨視的物性の予測が必要不可欠になってきている。しかしながら、後述するように構造と物性を同時に取得できるツールはこれまで存在せず、そのような手法の出現が待たれていた。また高分子系の最も基礎的な段階としての単一合成高分子鎖に関しては、これまで物性を調べられるツールは皆無であり、それを記述する理論だけが先行していた。すべての高分子物性理論が単一分子鎖の理論をその土台として利用していながら、その部分を実際に実験的に調べる方法がなかったのが現状なのである。

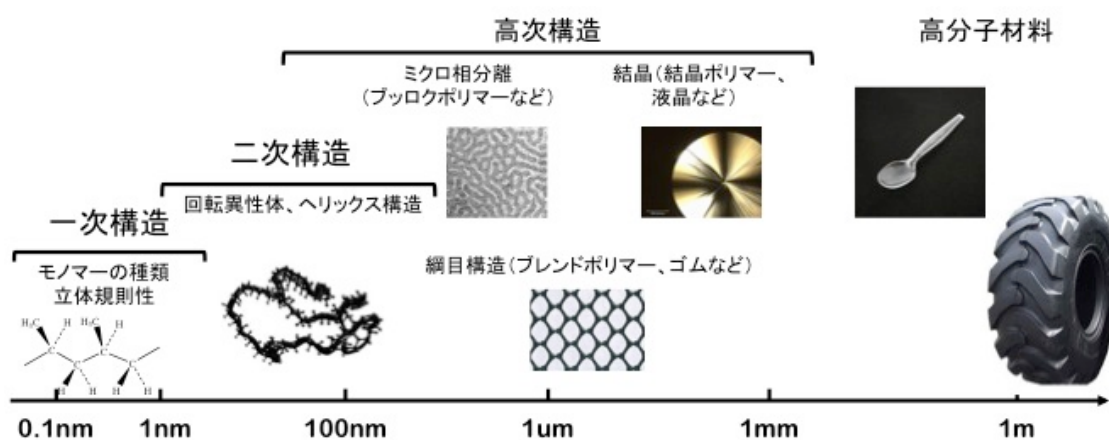


図1-1 高分子の階層構造

これまで高分子研究に利用されてきた最も一般的な測定手法を表1-1に示す。「高分子鎖の評価」と「高分子物性の評価」は殆どがマクロな系における平均化された情報を得るものであった。より小さな領域で「ナノスケール空間分解能の評価」の手法として透過型電子顕微鏡 (TEM) 等があるが、観察は構造情報を捉えられるだけであった。従来の測定手段にはさまざまな限界があるため、どのツールも前節に述べた目的には合致せず、物性・機能と結びついた新解析法の確立が必要である。

表 1-1 従来の測定

特徴	ツール	欠点
高分子鎖の評価	中性子回折法、光散乱法等	平均したデータしか与えない
高分子物性の評価	動的粘弾性測定(DMA)、引張試験等	ナノスケールの解析が不可能
ナノスケール分解能の 評価	透過型電子顕微鏡 (TEM) 、走査型 電子顕微鏡 (SEM) 等	物性に関する情報を与えない

そこで本研究では原子間力顕微鏡 (AFM) ^[1]に着目した。AFMは、水平と垂直両方向の空間分解能がナノメートルスケールを超えており、これまでもさまざまな高分子の微細構造観察例が報告されている。一方、私が所属する研究室では、AFM探針が試料と接しているがゆえに、試料そのものの変形を直接的に検出できるという特徴に注目して、AFMを物性測定ツールとして利用できる可能性を追求してきた。

1.2 原子間力顕微鏡（AFM）

1982 年、IBM チューリッヒの G. Binnig と H. Rohrer により、走査型トンネル顕微鏡（STM）が発明された^[2]。STM は、探針を表面に近づけ、流れるトンネル電流から表面の構造と電子の状態密度などを原子的スケールで測定でき、ナノ分析の装置として確固たる地位を確立した。しかしながら、STM には金属や半導体のような導電体しか観察できず、電気的情報しか得られないという制限がある。そこで、絶縁体を観察するため、力学的な情報の得られる原子間力顕微鏡（AFM）が G. Binnig、C. F. Quate、Ch. Gerber^[1, 3]により、1986 年に開発された。図 1-2 に、私が所属する研究室の AFM を示す。



図 1-2 原子間力顕微鏡

AFM の誕生により、導電性材料に限らず、絶縁体の表面も原子スケールの空間分解能での観測が可能になる。高分子材料などのソフトマテリアルはほとんどの場合が絶縁体であるので、AFM はソフトマテリアルの構造や物性、特に力学物性をナノスケールで測定するのに強力なツールであり、高分子科学や生命科学の研究に盛んに使用されている。STM や AFM のように、探針 (probe) を用いて試料表面を走査して試料の表面観察を行う顕微鏡は、走査型プローブ顕微鏡 (SPM: Scanning Probe Microscopy) と総称される。SPM の発展の歴史を図 1-3 に示す。STM と AFM だけでなく、近接場光学顕微鏡や磁気力顕微鏡や摩擦力顕微鏡などの多くの種類の SPM が開発されており、構造の観察や物性の測定、さらにナノ加工にまで利用されている。それ故、材料科学の研究に不可欠なツールとして、SPM には今後もより広い応用が期待される。

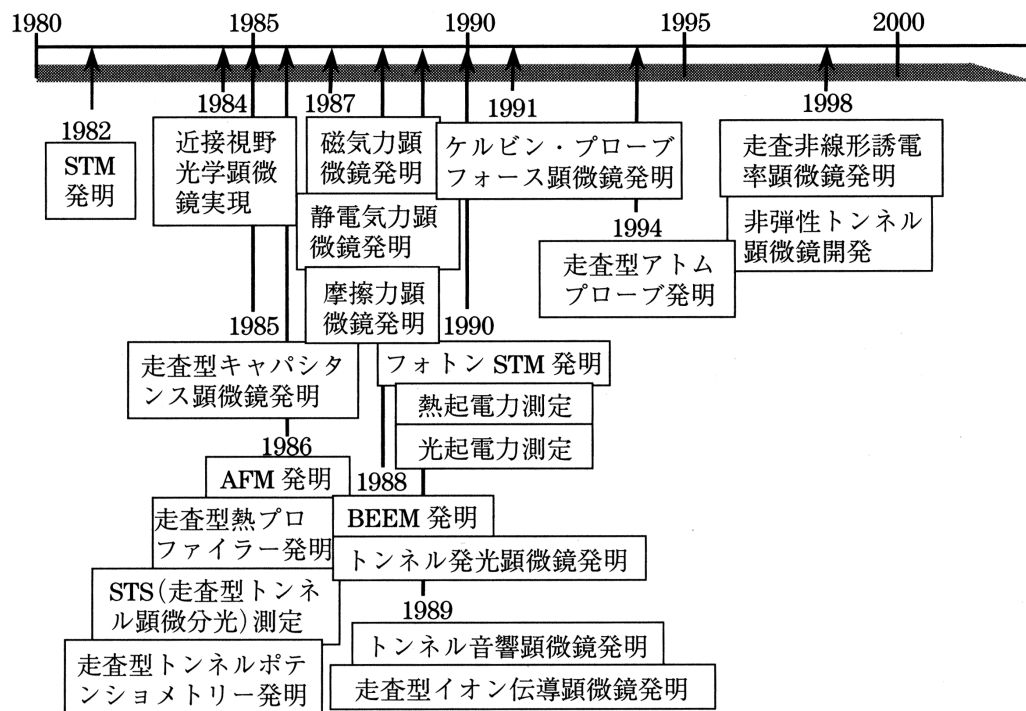


図 1-3 SPM の歴史

AFM には、図 1-4 に示すように、DC モード(コンタクトモード) と AC モード(ダイナミックモード)の二つの動作がある。DC モードが最も初期に開発された測定モードで、探針を付けたカンチレバーを試料表面に近づけ、探針-試料相互作用をカンチレバーのたわみとして検出する。DC モードから、試料表面の凹凸像が観察され、さらに後述するフォース・カーブが得られる。

一方、AC モードはカンチレバーを振動させることにより、探針-試料相互作用を検出する。検出の方法として、振幅変調検出法(AM 検出法)と周波数変調検出法(FM 検出法)の二つの方法があり、それぞれタッピングモード(間欠接触モード、Intermittent contact mode)、フォースモジュレーションモードとノンコンタクトモードに用いられている。特にタッピングモードは操作が比較的容易であることや、粘弾性等の物性が寄与すると考えられている振動の位相差の情報も同時に検出できること、コンタクトモードに比べて試料に与えるダメージが少ないことなどから、ソフトマテリアルの観察に広く利用されている。

20 世紀の以来(訳が分からない)、微細加工カンチレバーや光てこ法の開発により、AFM 開発初期以来のエポックメイキングな変革が完成し、AFM の第二期に移行したといわれている^[4]。真空中では、原子スケールで吸着サイトあるいは電子状態を議論できる程に至っている^[5]。しかし、気液中では、大きな粘性抵抗の存在のために、カンチレバー共振周波数のシフトから微小引力を検出することができなかった。近年、計測系や励振系の発展により、京都大の山田ら^[6]

と Hoogenboom ら^[7]が液中での原子分解能観察に成功している。さらに、神戸大の大西ら^[8]による、一気圧の窒素ガス中での二酸化チタン単結晶表面の酸素原子列を識別の成功など、観察雰囲気

の制約は急速に緩和されつつある。

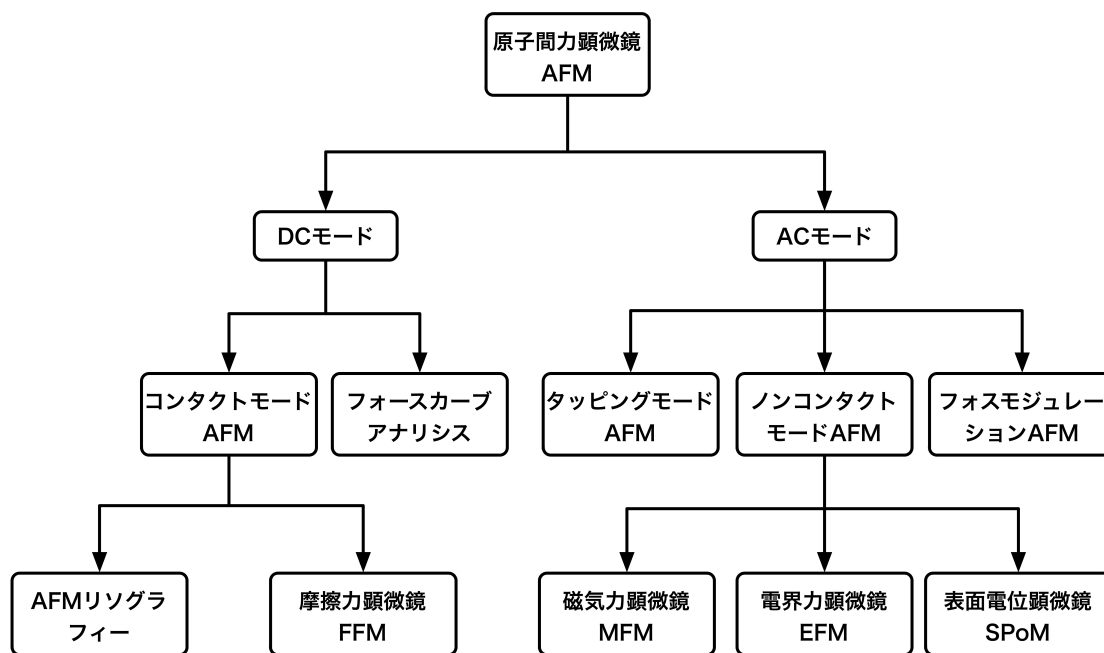


図 1-3 AFM の分類

通常の AFM では走査速度の制約から、分子などの高速な動きを映像として捉えることが難しかった。しかし金沢大の安藤らにより、1 画像を 33ms で撮像できる高速 AFM も開発されている^[9]。最近、カンチレバーの励振効率のドリフト補償^[10]や光熱効果を利用してカンチレバーをたわませる探針・試料間距離調節^[11]などの技術改良を通じ、生体分子の構造と動態を高い解像度で可視化し、生体分子機能メカニズムを解明する研究が進められている^[12]。AFM がナノスケール分析装置として、さまざまな研究領域で強力な手段となっているのである。

1.3 AFM による高分子の物性評価

AFM は上述のように、水平と垂直両方向のナノスケールの空間分解能で試料の微細構造が観察できる一方、探針が試料と接しているがゆえに、力そのものを直接的に検出できる特徴もある。一般的には AFM における力の検出は、カンチレバーの反りをレーザー光の反射で検出する光てこ法で行われ、pN の領域にまで及ぶ力検出感度を達成している。このような高い空間分解能と力検出感度を組み合わせることで、AFM では探針の接触領域近辺の非常に小さな領域の力学物性を捉えることができる。そのため、ナノ材料の構造と力学物性を相関づけて分析することができる。AFM による微小な力の精密測定をさらに追求すると、よりミクロな領域における課題である単一分子鎖の世界を観察することも可能になる。

1.3.1 高分子 1 本鎖の力学物性

高分子材料の巨視的な特性が分子鎖の一次構造、コンフォメーション及び相互作用と密接に関連している。高分子の機能化、高性能化が進むとともに、より微小な領域での構造観察およびそこからの構造制御へのフィードバックを通じ、高分子物性の性能向上が求められている。そのために、高分子系の最も基礎的な段階である、単一合成高分子鎖のレベルの研究が重要な課題である。

1917 年、Staudinger による高分子説の提唱により誕生した高分子物理学は、高分子一本鎖の力学物性をほとんどの理論の基礎にしている。この高分子、長く曲がり易い鎖の物理学は、Debye、Kuhn、Kramers、Flory 等といった偉大な科学者たちによって開拓された。これらの先駆者によってランダムコイルの概念やエントロピー弾性といった基礎的な考え方が導入されたのである。そして 1970 年代には Edwards、de Gennes、des Cloiseaux らによって、汎関数積分や多体論、スケーリングといった手法の導入や高分子統計と相転移の問題の関係性の発見による理論の発展が見られている。

中性子回折や光散乱などの希薄溶液の実験から、単一分子鎖についての情報が得られるが、多数の分子の平均値を測定しているに過ぎないという問題があり、単一の高分子鎖を直接的に扱うことは不可能であった。AFM や光ピンセットなどの実験装置の発明により、微小な力の精密測定と単一高分子の伸長実験が可能になった。従来のバルクの実験と比較すると、この手法では単一の分子鎖の「個性」に関する情報を得ることができる。

単一分子レベルの操作を実現するため、微小力検出能と高空間分解能の二つの基本的な要素が必要である。数 fN~nN の力を測定できる実験装置は、表 1-2 のように、機械トランスデューサと外部フィールドマニピュレータの二種類がある。機械トランスデューサでは、AFM^[13, 14] と glass microneedles^[15-17] がカンチレバーの反りを通じ、力を検出する。外部フィールドマニピュレータでは、流体場 (flow field)^[18]、磁場 (magnetic beads)^[19]、または光波 (optical tweezers)

[20-22] の作用を通じ、分子自身または分子に付着の「ハンドル」（ガラスビーズ、ポリスチレンビーズ、金属粒子）に力を加える。

表 1-2 単一分子操作技術の概要^[23]

Method	Force range [N]	Minmum displacement [m]	Application
Mechanical force (cantilevers)	10^{-11} – 10^{-7}	10^{-10}	DNA, proteins, polysaccharides, synthetic polymers
Mechanical force (microneedles)	10^{-12} – 10^{-10}	10^{-9}	Actin, stretching, unzipping, and twisting DNA
Flow field	10^{-13} – 10^{-9}	10^{-8}	DNA dynamics
Magnetic beads	10^{-14} – 10^{-11}	10^{-8}	Stretching and twisting of DNA
Optical tweezers	10^{-13} – 10^{-10}	10^{-9}	Actin, DNA, RNA, proteins, molecular motors

その中で、AFM は 10 pN～100 nN という十分な力検出感度と他を圧倒する高い空間分解能をもっており、最も多く DNA、タンパク質、多糖類、および合成ポリマーの物性解析に用いられている。AFM は水中に限らず、有機溶媒の中でも測定できる。さらに、さまざまな制御条件の下でも（溶媒、温度、塩分、電気化学ポテンシャルなど）、単一の分子を扱うことが可能である。AFM によって、初めて分子内・分子間相互作用が分子レベルで直接的に測定され、合成系ポリマーの分子、生体高分子及び超分子の構造だけでなく、分子の立体配座の情報も得られる。

1994 年に、Colton により AFM で単一 DNA の鎖内の相互作用に関連した DNA 鎖の弾性が初めて測られた^[24]。この先駆的な成果は、その後の AFM の分子生物学分野への展開の端緒となった。例えば、タンパク質の折り畳み^[25-27]、高分子の弾力、DNA のメカニクス^[28-30]、分子の識別^[31, 32]がある。一方、合成高分子でも、エントロピー弾性^[33-36]、共有結合の強さ^[37, 38]、コンフォメーション転移^[39, 40]等の解析に有用な知見を与えることが分かった。図 1-4 に AFM の単一分子鎖実験による応用の一部を挙げる^[41]。

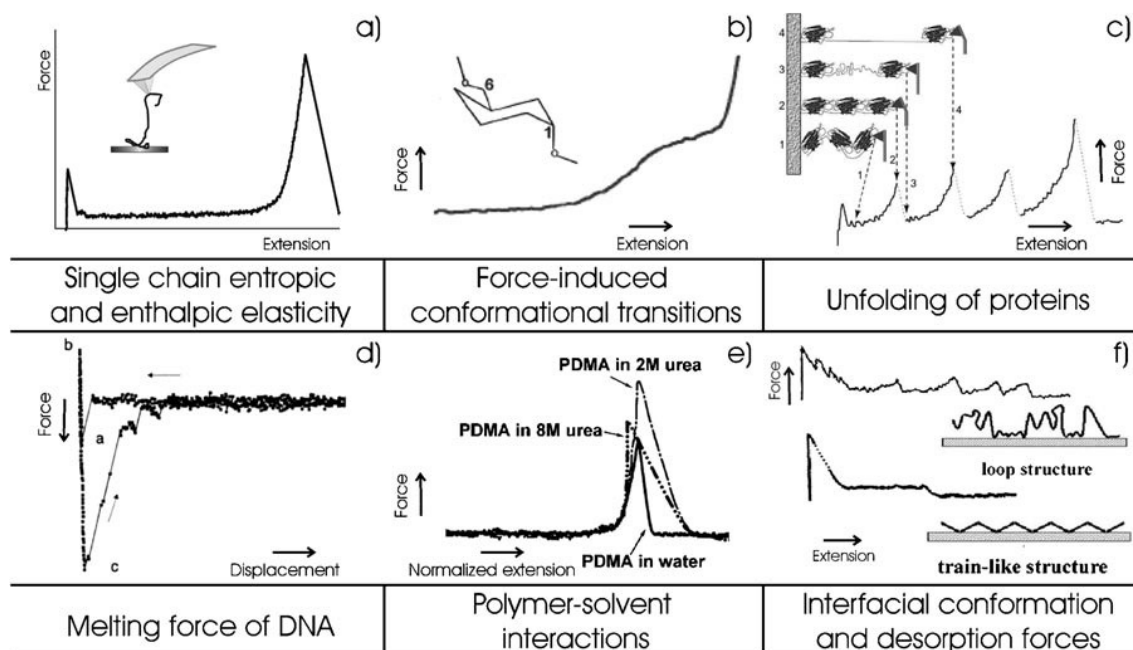


図 1-4 AFM による単一分子鎖実験の実例^[41]。a.合成高分子の一本鎖エントロピーとエンタルピーの弾性；b.伸長力によるリニア多糖類一本鎖の chair-to-boat のコンフォメーション転移；c.タンパク質のアンフォールディング；d.DNA の解ける力；e.高分子-溶媒の相互作用；f.界面における高分子鎖の立体配座と吸着力

本研究では、高分子の両末端を化学的に修飾し、基板との特異的相互作用でその一端を吸着させ、もう一つの端を AFM の探針先端で「釣り上げ」、単純に伸長するというナノフィッシングと呼ぶ。ナノフィッシングの結果を、理論モデルでフィッティングすることで、一本鎖のコンフォメーションや弾性などの情報が得られる。それによって高分子の機能と物性の相関の理解に有力な根拠を与えることが期待される。

「ナノフィッシング」と呼ばれるこの準静的な方法は、単一高分子鎖にかかる力を直接測定しているという点で非常に画期的であるが、不利な点もある。それは分子鎖の伸びが小さい領域の情報を引き出すことができないという点である。多くの場合、この領域では分子鎖は絡まったランダムコイルの状態にあると考えられており、この状態のダイナミクスは非常に興味深い。

1.3.2 高分子 1 本鎖のダイナミクス力学物性

近年、AFM を用いた単一高分子鎖の力学的性質の測定（ナノフィッシング）が盛んに行われている。これまでの研究は、平衡状態でゆっくり伸長するケースが多く、準静的ナノフィッシングと

呼ばれる。もし、伸長速度が速くなり、外部からの刺激が内部の平衡を維持できなくなるような伸長速度のとき、非平衡の影響を考えられなければならない。弾性だけでなく散逸の性質も合わせて高分子鎖の粘弾性と対抗することになる。準静的ナノフィッシングでは一本鎖のダイナミクスに関する粘弾性情報は全く得ることができない。最近では、非平衡状態を扱う「動的ナノフィッシング」が可能になることで、単一高分子鎖の弾性情報のみならず粘性の情報を実験的に測定できるようになってきている。高分子の粘弾性は非平衡ダイナミクスの最も重要な特質として広く認識されているから、単一分子レベルの粘弾性の研究には多いに期待がかけられている。

中嶋らにより、2000 年には単一タンパク質分子における力学的性質の動的な測定という先駆的な研究が行われた^[42]。タンパク質分子に 0.25Hz の正弦波を加えて、その応答を計測し、unfolding、refolding が繰り返し起こるという興味深い現象が観測された。近年の実験技術の進歩により、カンチレバーの熱揺らぎから揺動散逸定理を用いて粘弾性を議論するノイズ解析法^[43]とより直接的な周期外力を加える強制振動法^[44, 45]を用いた信頼度の高い研究が報道されつつある。その中で、強制振動法はカンチレバーの揺らぎに頼るわけではなく十分な振幅の強制振動を加えるので、より良い S/N を取れる利点をもつので、本研究では強制振動法を採用した。川上ら^[46, 47]と Humphrisy ら^[48]により、磁気によって周期力を加える手法を用いて、たんぱく質や DNA の folding-unfolding などのコンフォメーション転移のダイナミクスが研究され、McLeish ら^[49]によって、ポリペプチド鎖の高伸長展開における内部摩擦のメカニズムを検討することが行われた。また、非平衡状態で Jarzynski の等式と呼ばれる関係式が注目され、関連実験も行われている^[50, 51]。

最近、生体高分子における一本鎖の粘弾性についての研究^[46-49]が行われる一方、合成高分子に関する報道はほとんどないと言える。ゴムなどの高分子物質は応力が歪みに比例しない非線形弾性を示すように、合成高分子であっても系の非線形・非平衡性によるさまざまな特有の現象が見られる。そのために、本研究では単一合成高分子鎖を対象とし、単一の高分子鎖の粘性の起源や高分子分子内と溶媒間の相互作用などの根本的な高分子物理の問題を調べることを目的とする。

1.3.3 ナノ触診技術

上述のコンタクトモードでは鋭い探針を試料表面に接触し、その働く力(\sim nN)を一定に保ちながら試料表面をなぞることで凹凸情報を取得する。この手法では探針が試料表面に継続的に接触するので、軟らかい試料を傷つける可能性がある。その問題を回避するために、試料に断続的に弱い力(\sim pN)で触るタッピングモードが開発され、ソフトマテリアルの測定が可能になった。さらに、タッピングモードでは、探針の変調信号と試料の変調応答の間の位相差は損失弾性率またはエネルギー散逸に関係した試料の粘弾性に関係している。エネルギー散逸 E_{dis} はカンチレバー振動振幅の変化と位相差から算出でき、

$$E_{dis} = \frac{\pi k}{Q} A_0 A \left(\sin \varphi - \frac{\omega}{\omega_0} \frac{A}{A_0} \right) \quad (1.1)$$

のようになる。しかし、その位相差には粘性の寄与のみならず接触時の凝着ヒステリシスと試料の起伏の影響が無視できず、それが単純な粘弾性に関するプロセスとは認められない。つまり、位相差の解釈が幾分定性的なものとなる。

AFM で材料の力学物性を定量的に評価するため、さまざまな手法が利用されている。まず、高速に振動しているカンチレバーの動きを追究するためには、最近の AD ボードを使えば過不足なくリアルタイムのデータとして取り込めるし^[52]、高次振動モードの情報を同時に取り込み、フーリエ空間で解析することで試料と相互作用しているカンチレバーの動きを再現することができる^[53]。優れた手法だと認めるが、試料起伏の関連と力学応答の周波数依存性などの問題がある。いくつかの AFM メーカーは、より高速に力学物性分布を画像化すると謳う測定モードの提供をはじめている^[54, 55]。例えば、複雑なカンチレバーの動きを避けるように、カンチレバーを振動させるのではなく、試料直下のスキャナ振動を利用するピークフォース QNM モードがブルカー社によって開発された^[56]。QNM モードでは、高速で力の応答曲線を記録し、後述する DMT モデルのフィッティングを通じ、試料凹凸像の測定と全く同時に機械特性のマッピングが行える。しかし、凝着的相互作用の影響を無視している DMT モデルでは、凝着の影響を避けられないゴムや生体材料などのソフトマテリアルに対する適用という点では今後の検証の必要がある。

上述の手法はほとんど試料の弾性的な方だけ着目している一方、レオロジーに関する粘着や凝着などの粘弾性という物性には触れていない。そのために、我々の研究室ではナノ触診 AFM という技術を開発した^[57]。ナノ触診技術の名前の由来は、医師の指で体中を触診するのと同じように AFM の微細な探針で試料表面を触診し、押し込む力と試料変形の間係を取得することで弾性率や凝着エネルギーなどの力学物性の計測を行うことが可能だからである。図 1-5 に、硬い基板における力-試料変形量曲線の測定過程を表す。試料が十分硬い場合には、図中に示した式で定義される変形量がゼロになる。ナノ触診 AFM は、試料表面各点でフォースカーブ測定を行うフォースボリュームモード (FV モード) により、変形量や弾性率などの情報を算出し、二次元的にそれらをマッピングする手法である。この測定から図 1-6 のように真の形状像、変形量像及びヤング率像を得ることができる。

しかしながら、これまでの研究では、高分子特性として特徴的な粘弾性、特に粘性情報について定量的に評価できないという問題があった。本研究では、ナノ触診 AFM によって、粘性情報の評価方法の確立を目指す。さらに、タッピングモードによるエネルギー散逸 (式(1.1)) とと比較することで、両者の本質的な差異を追及する。

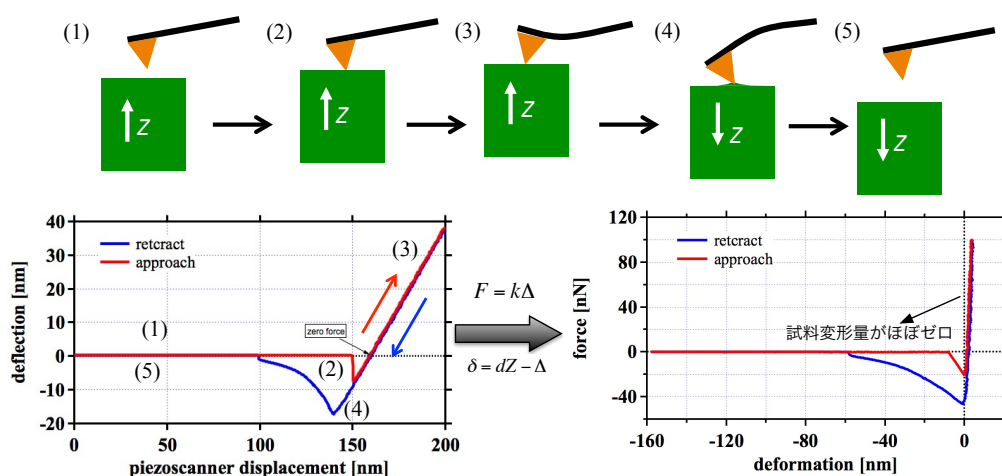


図 1-5 フォースカーブ模式図 フォースカーブ測定はカンチレバーおよび探針を試料表面に対して垂直に走査し、相対位置の変位とカンチレバーの反りをプロットしたものである。カンチレバーの反り量から試料にかかる力が分かり、試料が変形する場合には図中の式からその変形量が計算できるので、最終的に力-変形量カーブが得られる。

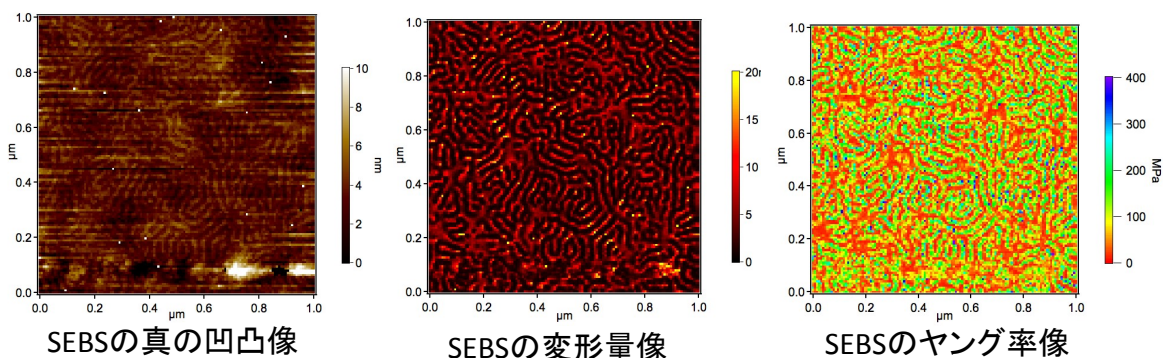


図 1-6 ナノ触診AFMによるスチレン-エチレンブチレン-スチレン共重合ブロックコポリマー(SEBS)の真の凹凸像、変形量像およびヤング率像、範囲 $1.0 \mu\text{m}$

1.4 本研究の目的

本研究の目的は、従来の AFM による準静的ナノフィッシングと我が研究室で開発が行われている動的ナノフィッシングを組み合わせ、高分子分子鎖の機能性、粘弾性及び溶媒相互作用の相関性を調べることである。温度感応性高分子ポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM) と汎用合成高分子ポリスチレン (PS) を試料として用いた。一方、これまでのナノ触診技術をさらに発展させ、フォースカーブ解析による、粘性情報の評価方法の確立を目指した。この研究では、スチレン-エチレンブチレン-スチレン共重合ブロックコポリマー (SEBS) を用いた。

よって、本研究の目的は以下の通りとなる。

- 単一合成高分子鎖の伸長実験による機能性高分子のメカニズム解明 (第四章)
- 動的ナノフィッシング手法の開発と高分子鎖の粘弾性の起源の解明 (第五章)
- ナノメートルスケールでの表面エネルギー散逸と粘弾性仕事の定量的な評価 (第六章)
- ナノ触診AFM手法の応用研究 (第七章)

参考文献

- [1] G. Binnig, C. F. Quate and Ch. Gerber, *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930 (1986).
- [2] G. Binnig, H. Rohrer, Ch. Gerber; E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.*, **49**, 57 (1982).
- [3] G. Binnig; H. Rohrer, *Rev. Mod. Phys.*, **59**, 615 (1987).
- [4] 森田 清三編, 原子・分子のナノ力学, 丸善, 2003.
- [5] T. Fukuma, K. Kobayashi, K. Matsushige; *Appl. Phys. Lett.*, **86**, 193108 (2005).
- [6] T. Fukuma; K. Kobayashi; K. Matsushige; H. Yamada, *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 034101 (2005).
- [7] B. W. Hoogenboom; H. J. Hug; Y. Pellmont; S. Martin; P. L. Frederix; D. Fotiadis; A. Engel. *Appl. Phys. Lett.*, **88**, 193109 (2006).
- [8] A. Sasahara; C. Pang; H. Onishi; *J. Phys. Chem. B*, **110**, 4751 (2006).
- [9] H. Yamashita; N. Kodera; A. Miyagi; T. Uchihashi; D. Yamamoto; T. Ando. *Rev. Sci. Instrum.*, **78**, 083702 (2007).
- [10] N. Kodera; M. Sakashita; T. Ando. *Rev. Sci. Instrum.*, **77**, 083704 (2006).
- [11] T. Ando; T. Uchihashi; T. Fukuma. *Prog. Sur. Sci.*, **83**, 337 (2008).
- [12] N. Kodera; D. Yamamoto; R. Ishikawa; T. Ando. *Nature*, **468**, 72 (2010)
- [13] M. B. Viani; T. E. Schaffer; A. Chand; M. Rief, H. E. Gaub; P. K. Hansma, *J. Appl. Phys.*, **86**, 2258 (1999).
- [14] M. Carrion-Vazquez; A. F. Oberhauser; S. B. Fowler; P. E. Marszalek; S. E. Broedel; J. Clarke; J. M. Fernandez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 3694 (1999).
- [15] A. Kishino, T. Yanagida, *Nature*, **334**, 74 (1988).
- [16] M. S. Kellermayer; H. I. Granzier; *Biochem. Biophys; Res. Commun.*, **221**, 491 (1996).
- [17] B. Essevaz-Roulet; U. Bockelmann; F. Heslot; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 11935 (1997).
- [18] S. B. Smith; L. Finzi; C. Bustamante, *Science*, **258**, 1122 (1992).
- [19] T. R. Strick; V. Croquette; D. Bensimon, *Nature*, **404**, 901 (2000).
- [20] J. Howard; A. J. Hudspeth; R. D. Vale, *Nature*, **342**, 154 (1989).
- [21] M. S. Kellermayer; S. B. Smith; H. I. Granzier; C. Bustamante, *Science*, **276**, 1112 (1997).
- [22] A. Gupta; A. Vincent; K. Neupane; H. Yu, F. Wang; M. T. Woodside. *Nature Physics*, **7**, 631 (2011).
- [23] M. I. Giannotti; G. J. Vancso. *Chem. Phys. Chem.*, **8**, 2290 (2007).
- [24] G. U. Lee; L. A. Chrisey; R. J. Colton, *Science*, **266**, 771 (1994).
- [25] H. Li; W. A. Linke; A. F. Oberhauser; M. Carrion-Vazquez; J. G. Kerkvliet; H. Lu; P. E. Marszalek; J. M. Fernandez, *Nature*, **418**, 998 (2002).
- [26] E. M. Puchner; H. E. Gaub, *Curr. Opin. Str. Biol.*, **19**, 605 (2009).

- [27] G. P. Albert; G. S. Angel; A. F. Oberhauser; C. Marek; C. V. Mariano, *Curr. Opin. Str. Biol.*, **20**, 63 (2010).
- [28] R. Krautbauer; M. Rief; H. E. Gaub, *Nano Lett.*, **3**, 493 (2003).
- [29] C. Bustamante; Z. Bryant; S. B. Smith, *Nature*, **421**, 423 (2003).
- [30] D. Kim; N.K. Chung; J.S. Kim; J.W. Park, *Soft Matter*, **6**, 3979 (2010).
- [31] P. Samori; M. Surn; V. Palermo; R. Lazzaroni; P. Leclre, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 3927 (2006).
- [32] M. S. Z. Kellermayer, *Physiol. Meas.*, **26**, 119 (2005).
- [33] J. E. Bemis; B. B. Akhremitchev; G. C. Walker, *Langmuir*, **15**, 2799 (1999).
- [34] W. K. Zhang; S. Zou; C. Wang; X. Zhang, *J. Phys. Chem. B*, **104**, 10258 (2000).
- [35] S. Zou; I. Korczagin; M. A. Hempenius; H. Schonherr; G. J. Vancso, *Polymer*, **47**, 2483 (2006).
- [36] K. Nakajima; T. Nishi, *Chem, Rec.*, **6**, 249 (2006).
- [37] R. W. Friddle; M. C. Lemieux; G. Cicero; A. B. Artyukhin; V. V. Tsukruk; J. C. Grossman; G. Galli; A. Noy, *Nature Nanotechnology*, **2**, 692 (2007).
- [38] A. Noy; R. W. Friddle. *Methods*, **60**, 142 (2013).
- [39] B. J. Haupt; T. J. Senden; E. M. Sevick. *Langmuir*, **18**, 2174 (2002).
- [40] I. T. S. Li; G. C. Walker. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 6530 (2010).
- [41] C. J. Liu; W. Q. Shi; S. X. Cui; Z. Q. Wang; X. Zhang; *Curr. Opin. Solid. State Mater. Sci.* **9**, 140 (2005).
- [42] K. Mitsui; K. Nakajima; H. Arakawa; M. Hara; A. Ikai, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **272**, 55 (2000).
- [43] M. Kawakami; K. Byrne; B. S. Khatri; T. C. B. Mcleish; S. E. Radford; D. A. Smith, *Langmuir*, **21**, 4765 (2005).
- [44] F. Kienberger; V. P. Pastushenko; G. Kada; H. J. Gruber; C. Riener; H. Schindler; P. Hinterdorfer. *Sin. Mol.*, **12**, 123 (2000).
- [45] H. Watabe, K. Nakajima, Y. Sakai, T. Nishi, *Macromolecules*, **39**, 5921 (2006).
- [46] M. Kawakami; K. Byrne; D. J. Brockwell; S. E. Radford; D. A. Smith, *Biophysical Journal*, **91**, 16 (2006).
- [47] Y. Taniguchi; B. S. Khatri; D. J. Brockwell; E. Paci, M. Kawakami. *Biophysical Journal* **99**, 257 (2010).
- [48] H. Janovjak; D. J. Müller; A. D. L. Humphrisy, *Biophysical Journal*, **88**, 1423 (2005).
- [49] B. S. Khatri; K. Byrne; M. Kawakami; D. J. Brockwell; D. A. Smith; S. E. Radford, T. C. B. McLeish, *Faraday Discuss.*, **139**, 35 (2008).
- [50] N. C. Harris; Y. Song; C. H. Kiang. *Phys. Rev. Lett.*, **99**, 068101 (2007).

- [51] C. Jarzynski, *Prog. Theor. Phys. Suppl.* **165**, 1 (2006).
- [52] T. J. Young; M. A. Monclus; T. L. Burnett; W. R. Broughton; S. L. Ogin; P. A. Smith, *Meas.Sci.Technol.*, **22**, 125703 (2011).
- [53] O. Sahin; S. Magonov; C. Su; C. F. Quate; O. Solgaard: *Nature Nanotechnology*, **2**, 507 (2007).
- [54] K. Sweers; K. van der Werf; M. Bennink; V. Subramaniam, *Nanoscale Res. Lett.*, **6**, 270 (2011).
- [55] L. Chopinet; C. Formosa; M.P. Rols; R.E. Duval; E. Dague, *Micron*, **48**, 26 (2013).
- [56] B. Pittenger; N. Erina; C. Su, 2010 Quantitative mechanical property mapping at the nanoscale with PeakForce QNM
<http://nanoscaleworld.bruker-axs.com/nanoscaleworld/media/p/418.aspx>
- [57] D. Wang, S. Fujinami, K. Nakajima and T. Nishi, *Macromolecules*, **43**, 3169 (2010).

第2章 理論

2.1 単一高分子鎖の伸長理論

2.1.1 高分子の形態

溶液中では、1本の高分子鎖が取りうる莫大な数の回転異性体状態が実現し、その分布が Boltzmann 統計に従っている。高分子鎖の形態が異なった状態間を移り変わるので、ランダムコイルと呼ばれる。このような高分子鎖のセグメントは形式的に液体中の Brown 粒子の動きと同じ状況にある。従って、高分子鎖の分布関数は Brown 粒子の変位の分布関数である Gauss 関数で表され、自由連結鎖モデルと言われる。

a. 理想鎖

1947 年に Orr^[1]が、Gauss 分布に基づいて、理想鎖モデルを提出した。図 2-1 に示したように、曲がりやすい高分子鎖を規則格子上のランダム・ウォーク (random walk) と見なすのが、もっとも単純な理想化であろう。

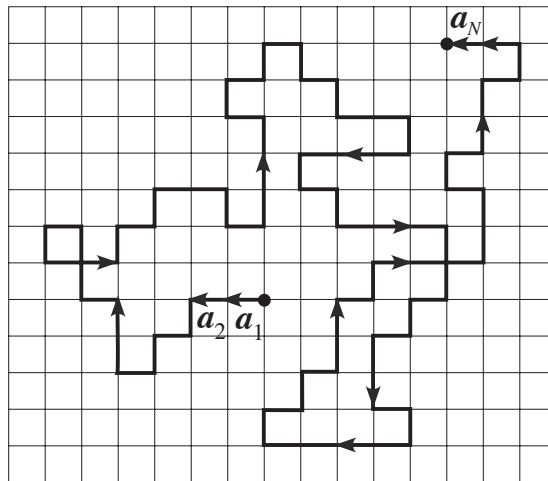


図 2-1 理想鎖のランダム・ウォーク

理想鎖末端間距離の分布

連結点の番号を 0(原点)から N_s までつける。 i 番目と j 番目の連結点間のベクトルは

$$b_{ij} = \sum_{l=i+1}^j a_l \quad (2.1)$$

で与えられ、末端間ベクトル r は

$$r = \sum_{l=1}^{N_s} a_l \quad (2.2)$$

で与えられる。ここで、体積要素 d^3r に存在する末端間ベクトル r の分布関数

$$p(r)d^3r \quad (2.3)$$

である。この分布関数は球対称であるので

$$r \equiv |r| \quad (2.4)$$

のみの関数であり、次のように規格化されている。

$$\int p(r)d^3r = 1 \quad (2.5)$$

先に述べたように、 $p(r)$ は相関のない N_s 回ステップの後の Brown 粒子の変位の分布関数と同じものである。詳しい計算は省略するが、Gauss 関数で表され

$$p(r) = \left(\frac{3}{2\pi \langle r^2 \rangle} \right)^{3/2} \exp \left(\frac{-3r^2}{2 \langle r^2 \rangle} \right) \quad (2.6)$$

図 2-2 にこの形が描かれている。

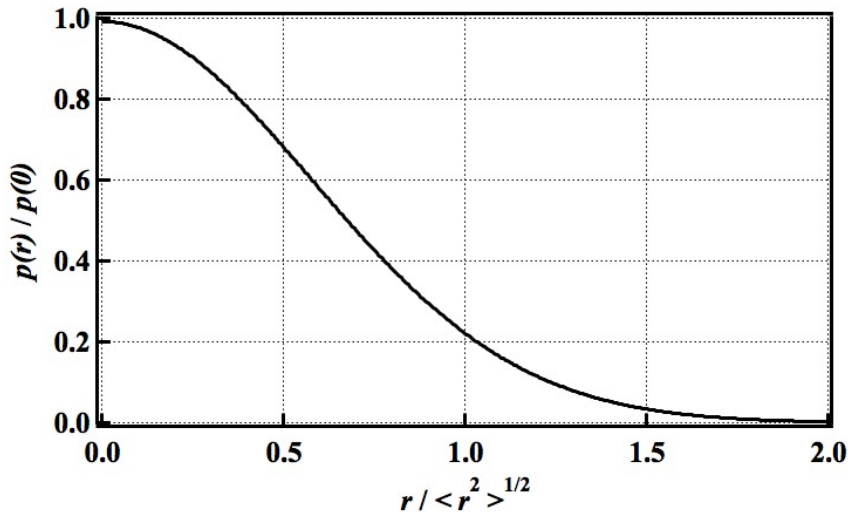


図 2-2 理想鎖の末端間距離の Gauss 分布

理想鎖の末端間距離

式 (2.6) では、末端間距離の 2 乗平均 $\langle r^2 \rangle$ だけが唯一のパラメーターであり、 $p(r)$ から計算できることである。

$$\langle r^2 \rangle = \int_{R=0}^{\infty} p(r) r^2 4\pi r^2 dr \quad (2.7)$$

自由連結セグメント鎖の $\langle R^2 \rangle$ は直接計算できる。

$$\langle r^2 \rangle = N_s \langle |a_l|^2 \rangle \quad (2.8)$$

また

$$\langle a_l \cdot a_{l'} \rangle = \langle |a_l|^2 \rangle \cdot \delta_{ll'} \quad (2.9)$$

であるので、次の式が得られる。

$$\langle r^2 \rangle = N_s \langle |a_l|^2 \rangle \quad (2.10)$$

高分子鎖の両端の伸長

原点 ($\mathbf{r}=0$) から始まり、格子点 \mathbf{r} に終わる全ての鎖の構造からくるエントロピー $S(\mathbf{r})$ は、単に (0) から (\mathbf{r}) までの N 歩の異なる軌跡の数 $\Omega_N(\mathbf{r})$ に関係していて、

$$S(\mathbf{r}) = k_B \ln [\Omega_N(\mathbf{r})] \quad (2.11)$$

となる。また、各格子点に z 個の最近接点があれば、各ステップでの異なる可能性の数は z で、従って全軌跡数は

$$\sum_{(r)} \Omega_N(\mathbf{r}) = z^N \quad (2.12)$$

で与えられる (ここで、 $\sum_{(r)}$ は格子点に関する和を表す)。鎖を定まった長さに伸ばしたときの

エントロピーが求まる。

$$S(\mathbf{r}) = S(0) - \frac{3k_B r^2}{2R_0^2} \quad (2.13)$$

このように、鎖を長く伸ばすとエントロピーが減少する。これを自由エネルギーの形 ($F(\mathbf{r}) = E - TS$) に書き換える。エネルギー E は鎖の形によらず定数になるので、自由エネルギーは以下のように表すことができる。

$$F(\mathbf{r}) = F(0) + \frac{3k_B T r^2}{2R_0^2} \quad (2.14)$$

鎖の両端に力 f と $-f$ をかけて、鎖の平均の伸び $\langle r \rangle_f$ を考える。大きすぎない f に対しては、

式 (2.14)を用いることができる。力 f は $r = \langle r \rangle_f$ での $\partial F / \partial r$ に等しいので、

$$f = \left. \frac{\partial F}{\partial r} \right|_{r=\langle r \rangle_f} = \frac{3k_B T}{R_0^2} r \quad (2.15)$$

式(2.15)は $\langle r \rangle$ が N_a より十分小さければ(鎖が伸び切っていない)成り立つ。その条件は $f \ll k_B T / a$ と書くことができる。この領域では力と鎖の伸びが比例し、鎖の「バネ定数」 k は次式で与えられる。

$$k = \frac{3k_B T}{R_0^2} \quad (2.16)$$

b. 実際鎖

理想鎖モデルは非常に簡単な系で高分子系の動きを扱う。もう少し考えて見ると、大事な点が見落とされていることに気づく。拡散する Brown 粒子と異なって、有限の大きさをもったモノマーが繋がってできた鎖は同じ場所を二度通ることができないからである。この排除体積 (excluded volume) 効果は状況を全く変えてしまう。排除体積相互作用は鎖を膨張させることが明らかであるが、どのように定量化できるだろうか。この問題は高分子の重要な問題であったが、1972 年に de Gennes が物理学の臨界現象の問題と形式的に同等であることを示し、排除体積効果の基本的な解が得られた。実験^[2, 3]、理論やシミュレーションによって、解析が進められている。

実際鎖の末端間距離

高分子鎖の排除体積効果は格子モデルの自己回避酔歩 (SAW、 self-avoiding walk) の問題と同一である。ここでは SAW の数値的研究により得られた結果を見ていくことにする。 N 歩の全 SAW 数は次のような (大きな N) での漸近形を持つ。

$$\Omega_N(tot) = const. \times \tilde{z}^N N^{\gamma-1} \quad (2.17)$$

\tilde{z} は理想鎖の場合の z より少し小さい。これは排除体積効果によるものである。3 次元単純立方格子では $z = 6$ 、 $\tilde{z} = 4.68$ であることがわかっている。第 2 の因子 $N^{\gamma-1}$ は理想鎖の場合には現れなかったもので、これは増加因子 (enhancement factor) と呼ばれる。その指数 γ は次元 d のみに依存し、

$$\gamma = \gamma_{3D} \cong \frac{7}{6} \quad (2.18)$$

$$\gamma = \gamma_{2D} \cong \frac{4}{3} \quad (2.19)$$

で与えられる。格子には依存せず、次元 d のみに依存するという意味で、 γ は普遍的指数 (universal exponent) であるといえる。実在鎖では末端間距離の 2 乗平均 R_F^2 は次式のようにスケールされる。

$$R_F \cong N^{3/5} a \quad (2.20)$$

この指数 $\nu = 3/5$ が理想鎖の場合の $\nu = 1/2$ と異なることが重要である。厳密には $\nu = 3/5$ ではなく、繰り込み群の計算では $\nu = 0.588$ である。

末端間距離の分布

分布関数 $p(r)$ は下記のように

$$p(r) = \frac{1}{R_F^d} f_p\left(\frac{r}{R_F}\right) \quad (a \ll r \ll Na) \quad (2.21)$$

係数 $1/R_F^d$ は規格化条件： $\int p(r) dr = 1$ を満たすために付けられたものである。

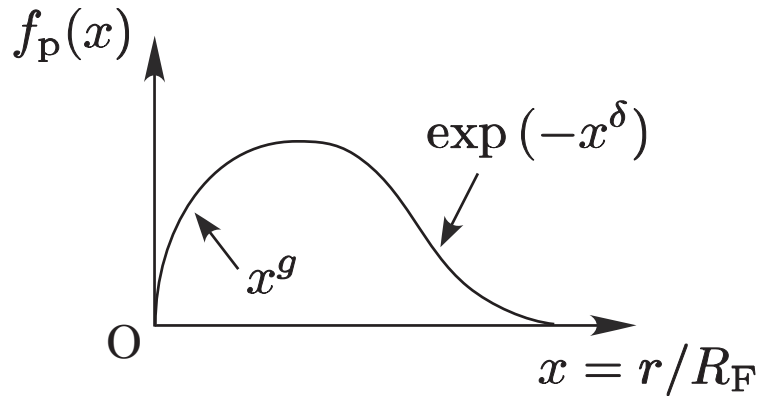


図 2-3 実鎖の末端間距離についての無次元化された分布関数

式 (2.21) 中の無次元化された分布関数 f_p の形は $d = 3$ の場合が図 2-3 に示されている。 f_p は、大きな x で急激に減少する。

$$\lim_{x \rightarrow \infty} f_p(x) = \exp(-x^\delta) f_1(x) \quad (2.22)$$

ここで、 $f_1(x)$ は x の関数である。また、指数 δ は強く伸ばされた鎖の主な性質を支配し、次式で与えられる。

$$\delta = (1 - \nu)^{-1} \quad (2.23)$$

x が小さいところでも f_p は急激に減少する。なぜなら、排除体積効果が存在すると出発点近くへ戻ることは例外的にしか起こらないためである。

$$\lim_{x \rightarrow \infty} f_p(x) = \text{const.} \times x^g \quad (2.24)$$

指数 g は 3 次元では $g = g_3 \cong 1/3$ である。 g は他の指数と以下のように関連づけられる。 原点の隣の点を終点に持つような SAW を考える。このような SAW の総数は、

$$\Omega_N(r=a) \cong \tilde{z}^N \left(\frac{a}{R_F} \right)^d \quad (2.25)$$

と書ける。全ての N 歩の SAW の終点は d 次元の体積 R_F^d 中に広がっており、それは R_F^{-d} の因子に現れている。

終点を始点の隣にとると ($r=a$), 分布関数 $p_N(r)$ は、式 (2.21)、(2.24) より、

$$p_N(a) \cong \frac{1}{R_F^d} \left(\frac{a}{R_F} \right)^g = \frac{1}{R_F^d} N^{-vg} \quad (2.26)$$

一方、それは (定義により) $\Omega_N(a)$ (式 (2.25)) と関連していて、

$$p_N(a) = a^{-d} \frac{\Omega_N(a)}{\Omega_N(\text{tot})} = \frac{1}{R_F^d} N^{1-\gamma} \quad (2.27)$$

これを式 (2.26) と比較することにより、

$$g = \frac{\gamma-1}{v} \quad (2.28)$$

を得る。この式は des Cloiseaux によって初めて導かれた^[4]。

引っ張られた実在鎖

分子鎖にかかる外力と鎖の伸びの関係も当然、理想鎖と実在鎖では異なってくる。外力 f からくる外場のエネルギーは、末端間距離が r のとき $-f \cdot r$ となり、鎖の分配関数は、

$$Z = \int dr p_N(r) \exp \left(\frac{fr}{k_B T} \right) \quad (2.29)$$

と書ける。式 (2.29) に含まれる特徴的な長さは、

1. Flory 半径 : $R_F \cong aN^{3/5}$

2. 長さ : $\xi_p = \frac{k_B T}{f}$

の 2 つだけである。伸び $r(f)$ は、次のように書くことができるだろう。

$$\langle r \rangle = R_F \varphi_r \left(\frac{R_F}{\xi_p} \right) = R_F \varphi_r(x) \quad (2.30)$$

ここで、 φ_r は無次元関数である。小さな f に対しては、 $\langle r \rangle$ は x に比例すると考えられる。

すなわち、 $\varphi_r(x \rightarrow 0) \cong x$ となり、従って、

$$\langle r \rangle \cong \frac{R_F^2}{k_B T} f \quad (f R_F < k_B T) \quad (2.31)$$

注意すべきは、小さい f に対して $\langle r \rangle$ は N に比例しないことである。これは、張力 f が(理想鎖の場合のように)骨組みを通してだけでなく、二つのモノマー $(n-m)$ (大きな $|n-m|$) の接触によっても伝わってゆくことの現れである。

次に、大きな力の極限 ($x \gg 1$) を考える。この場合 起こることは、図 2-4 のように理想化できる。鎖は各々の大きさが ξ_p の「blob」の連なりとなる。一つの blob の内部 (すなわち、 $r < \xi_p$) では力 f (それは無次元化量 $fr/k_B T$ で測られる) は弱い摂動で、各々 Flory 鎖の局所的相関を維持している。しかし、より長い尺度 $r > \xi_p$ では独立した blob の連なりと見なせる。

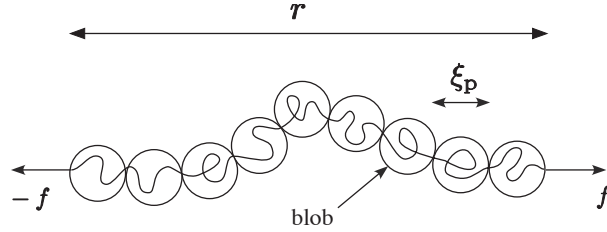


図 2-4 引っ張られた実在鎖の模型

blob あたりのモノマー数 g_p は実在鎖の Flory 則によって ξ_p と関連していて、

$$\xi_p \cong a g_p^{3/5} \quad \text{あるいは} \quad g_p = \left(\frac{k_B T}{a f} \right)^{5/3} \quad (2.32)$$

と書ける。一方、全 blob 数は N/g_p なので、鎖の伸びは次式のようにになる。

$$\langle r \rangle \cong \frac{N}{g_p} \xi_p \cong N a \left(\frac{f a}{k_B T} \right)^{2/3} \quad \frac{f a}{k_B T} \ll 1 \quad (2.33)$$

これより、実在鎖の弾性応答は理想鎖の場合に比べてはるかに非線形的であることがわかる。

このことは、図 2-5 に定性的に示した $\varphi(x)$ の形に現れている。

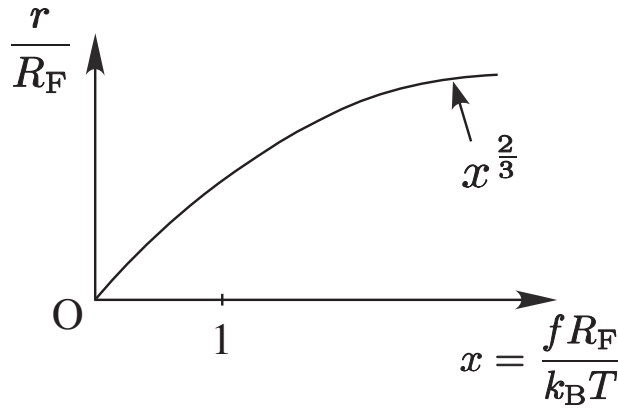


図 2-5 実際鎖の伸長と力の関数

式 (2.33) より、強く伸ばされた極限に関連して定義された指数 δ (式 (2.22)) を求めることができる。大きな r では確率分布はおおよそ $\exp \left[-(r/R_F)^\delta \right]$ に比例し、従って一定伸びに対するエントロピー $S(r)$ は、

$$S(r) = \text{const.} + \ln p_N(r) = \text{const.} - \left(\frac{r}{R_F} \right)^\delta \quad (2.34)$$

の形になる。対応する弾性自由エネルギーは $-TS$ なので、全自由エネルギーは

$$F_{\text{tot}} = k_B T \left(\frac{r}{R_F} \right)^\delta - f r \quad (2.35)$$

となる。物理的に実現される伸びは、 F を最小にする r に対応し、

$$f \equiv \frac{k_B T}{R_F} \left(\frac{r}{R_F} \right)^{\delta-1} \quad (2.36)$$

式 (2.33) と式 (2.36) を比較することにより、 $\nu = 3/5$ のときは $\delta = 5/2$ になることがわかる。

2.1.2 高分子の伸長理論

前節では、ランダムコイル構造の単一高分子鎖のセグメントがブラウン運動のように動くことを述べた。単一高分子鎖が伸ばされると、鎖の配位エントロピーの減少による回復力が発生する。理想鎖モデルも実際鎖モデルもこのエントロピー弾性を描き、この弾性が分子鎖の中低伸長領域の復元力を支配する。一方、分子鎖の伸びきり状態に近い場合では、主鎖の結合が引張方向に変形することによるエンタルピー弾性とエントロピーの力の両方が復元力に関係している。単一高分子鎖の伸びと力の関係を表す関数を得るためには、数多くのモデルが提案された。表 2-1 は、これまで提出された各モデルの公式をまとめる。この節では、一般的に用いられる自由連結鎖 (freely jointed chain, FJC) モデル^[5]とみみず鎖 (worm like chain, WLC) モデル^[6]。

⁷⁾を検討しよう。

表 2-1 単一高分子鎖の伸びと力の弾性モデル

Model	Force-distance expression	Fitting parameters
Freelyjointedchain(FJC) ^[5]	$\frac{x}{L} = \coth\left(\frac{l_K f}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{l_K f}$	l_K, L
Wormlikechain(WLC) (Marko-Siggia) ^[6, 7]	$\frac{f l_p}{k_B T} = \frac{x}{L} + \frac{1}{4(1-x/L)^2} - \frac{1}{4}$	l_p, L
ExtendedFJC (FJC+ or m-FJC) ^[8]	$\frac{x}{L} = \left[\coth\left(\frac{l_K f}{k_B T}\right) - \frac{k_B T}{l_K f} \right] \left(1 + \frac{f}{K_s l_K} \right)$	l_K, L, K_s
Odijk WLC ^[9]	$\frac{x}{L} = 1 - \frac{1}{2} \left(\frac{k_B T}{f l_p} \right)^{1/2} + \frac{f}{K}$	l_p, L, K_s
ModifiedMarko-Siggia WLC (WLC+) ^[10]	$\frac{f l_p}{k_B T} = \frac{x}{L} + \frac{1}{4(1-x/L + f/K_0)^2} - \frac{f}{K_0} - \frac{1}{4}$	l_p, L, K_0
Hooke-spring-modified WLC ^[11]	$f = \frac{k_B T}{l_p} \left[\frac{x}{L} + \frac{1}{4(1-x/L)^2} - \frac{1}{4} \right] + K' z$	l_p, L, K'

a. FJC model^[5, 12]

FJC model では、いくつかのモノマー単位を合わせた、一定の長さ l_K を持つセグメントが n 個、自由に折れ曲がることのできる結合点でつながった鎖を考える(図 2-6)。鎖を最大まで伸ばしたときの長さ (全長、contour length と呼ばれる) を L とすると、 L は l_K と

$$L = n l_K \quad (2.37)$$

のように関係づけられる。また、 L と l_K を用いて平均末端間距離 R は $R^2 = l_K L$ で表される。 l_K は Kuhn 長(Kuhnlength)と呼ばれ、鎖の剛直性を表すパラメーターである。

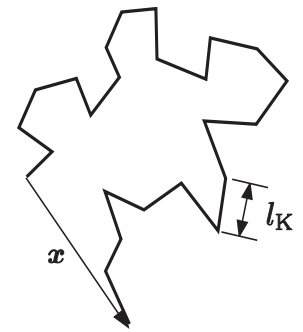


図 2-6 FJC モデル

以下では、分子鎖の末端間距離 (伸び) を x で表す。分子鎖の(Helmholtz)自由エネルギーは、分配関数の対数

$$F(x, T) = -k_B T \ln Z(x, T) \quad (2.38)$$

から求まる。また、自由エネルギーが求まれば、熱力学の関係式

$$dF = -SdT + f \cdot dx \quad (2.39)$$

からエントロピー S と、両端にかかる張力 f が求まる。FJC model における鎖の自由エネルギーを求めてみよう。分配関数は、

$$Z(x, T) = \int \cdots \int \prod_{i=1}^n \tau(b_i) db_1 db_2 \cdots db_n \quad (2.40)$$

で表される。ここで、 $\tau(\mathbf{b}_i)$ は隣り合う結合点を結ぶボンドベクトル \mathbf{b}_i (長さ l_K) が見出される確率であり、FJC モデルでは

$$\tau(b_i) = \frac{1}{4\pi b^2} \delta(b_i - l_K) \quad (2.41)$$

で与えられる。

式(2.40)は、制限条件 $\sum b_i = x$ がついているで、そのままでは積分できない。そこで、統計力学の一般的手法に基づき、分配関数 $Z(x, T)$ を Laplace 変換した、

$$\tilde{Z}(f, T) \equiv \int Z(x, T) e^{\beta f \cdot x} dx \quad \left(\beta \equiv \frac{1}{k_B T} \right) \quad (2.42)$$

を考える。新しい関数 $G(f, T)$ を $\tilde{Z}(f, T)$ の対数

$$G(f, T) \equiv -k_B T \ln \tilde{Z}(f, T) \quad (2.43)$$

で定義する。関数 G の微小変化は

$$dG(f, T) = -SdT - x \cdot df \quad (2.44)$$

で与えられるので、 G は Gibbs 自由エネルギーに対応する。Laplace 変換によりベクトル b_i の和に対する制限がとれ、 x についての積分ができて、

$$G(f, T) \equiv -nk_B T \ln \left[\int \tau(b) e^{s \cdot b} db \right] \quad (2.45)$$

となる。ここで s は、 $s \equiv \beta f$ である。FJC model の τ 関数 (式 (2.41)) を代入して積分を実行すると、

$$G(f, T) \equiv -nk_B T \ln \left[\frac{\sinh l_K s}{l_K s} \right] \quad (2.46)$$

となる。

式 (2.44) によると、鎖の末端にかかる張力が f である時、末端間ベクトルの平均値 x は $x = -(\partial G / \partial f)_T$ で与えられる。式 (2.45) を微分した結果を絶対値だけで書くと、

$$\frac{x}{L} = F \left(\frac{l_K f}{k_B T} \right) \quad (L \equiv nl_K) \quad (2.47)$$

となる。ここで F は以下で定義される Langevin 関数である。

$$F(x) \equiv \frac{d}{dx} \left\{ \ln \left[\frac{\sinh x}{x} \right] \right\} = \coth x - \frac{1}{x} \quad (2.48)$$

式 (2.47) は次のように書き換えることもできる。

$$f = \frac{k_B T}{l_K} F^{-1} \left(\frac{x}{L} \right) \quad (2.49)$$

$f \rightarrow +0$ の時、式 (2.47) の右辺を 1 次の項まで展開すると、

$$F \left(\frac{l_K f}{k_B T} \right) \cong \frac{3 l_K f}{k_B T} \quad (2.50)$$

となり、従って式 (2.47) から、

$$f = \frac{3 k_B T}{l_K L} x = \frac{3 k_B T}{n l_K^2} x \quad (2.51)$$

を得る。係数を除いて理想鎖の場合と一致する。

逆に $f \rightarrow +\infty$ の時、 $\coth \left(\frac{l_K f}{k_B T} \right)$ は指数関数的に 1 に漸近するので、

$$\frac{x}{L} \sim 1 - \frac{k_B T}{l_K f} \quad (2.52)$$

となる。ここで、 x が L に漸近することが分かる。

b. WLC model^[2, 6, 7]

大きな曲げ弾性をもつ高分子は半屈曲鎖 (semiflexible polymer) もしくは剛直鎖 (stiff polymer) と呼ばれる。曲げ弾性が小さく外力をかけない極限で、適度に粗視化することで屈曲鎖として扱える場合には半屈曲鎖(持続長 $l_p \ll L$) と呼ばれ、逆に曲げ弾性が比較的大きい場合には剛直鎖と呼ばれる。曲げ弾性を導入する WLC model は Kratky と Porod^[13] が提唱したもので、連続した曲率をもち、軌跡上の各点における屈曲方向が任意であるとするモデルである。このモデルは、特に半屈曲鎖な鎖を表す場合に有用である。

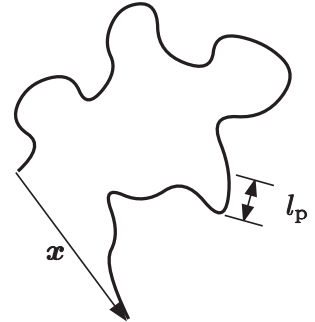


図 2-7 WLC モデル

まず、鎖を全長 L の曲線 $r(s)$ (s は弧の長さ) と考える (図 2-7)。

また、この曲線の接線ベクトル $\hat{t} = \partial r / \partial s$ は単位ベクトルとする。鎖長が十分長い場合は FJC model と同様に扱ってよく、この場合も平均末端間距離は $R_0 = (l_K L)^{1/2}$ となる。

鎖の曲げの弾性エネルギーは単位長さあたり

$$\frac{1}{2}k_B T l_p \kappa^2 \quad (\kappa = \left| \frac{\partial^2 r}{\partial s^2} \right| : \text{曲率}) \quad (2.53)$$

である。 l_p は持続長 (persistence length) と呼ばれ、この長さにおいて $k_B T$ のエネルギーにより曲げが起こり、また接線ベクトルの相関がなくなる。FJC model における Kuhn 長と同様、 l_p は WLC model における鎖の剛直性を表すパラメーターであり、Kuhn 長とは

$$l_K = 2l_p \quad (2.54)$$

という形で結びつけられる。

末端間距離 x が $x \ll L$ である場合 ($fl_p \ll k_B T$) は自由エネルギー F および力 f は、

$$F = \frac{3k_B T}{2R_0^2} x^2, \quad f = \frac{\partial F}{\partial x} = \frac{3k_B T}{2l_p L} x \quad (2.55)$$

であるとしてよい。理想鎖や FJC の場合と同様、Hooke の法則が成り立つ。

力が $k_B T/l_p$ より大きくなると、非線形なエントロピー弾性が支配的になる。伸張された WLC のエネルギー E は次式で与えられる。

$$\frac{E}{k_B T} = \int_0^L \frac{l_p \kappa^2}{2} ds - fx \quad (2.56)$$

ここで、力 f は末端間の伸長 $x \equiv \hat{x} \cdot [r(L) - r(0)]$ を拘束するための Lagrange 乗数として現れている。以下では力および伸長は x 方向に沿って加えられるとする。大きな力が WLC に加わると、伸びは全長 L に近づき、接線ベクトルは \hat{x} (x 方向の単位ベクトル) のまわりを揺らぐだけとなる。 $|\hat{t}|=1$ という制限、及び t_y 、 t_z が独立な成分であるとする、 t_x は $t_l (\equiv [t_y, t_z])$ の 2 次式で表すことができる。

$$t_x = 1 - \frac{1}{2} t_l^2 \vartheta(t_l^4) \quad (2.57)$$

これにより κ は

$$\kappa^2 = \left(\frac{\partial t_l}{\partial s} \right)^2 \quad (2.58)$$

と表すことができ、以下の近似式を得る。

$$\frac{E}{k_B T} = \frac{1}{2} \int_0^L \left[l_p \left(\frac{\partial t_l}{\partial s} \right)^2 + f t_l^2 \right] ds - fL \quad (2.59)$$

ここで、伸び x は $x = \int t_x ds$ と表し、また t_l の 4 次以上の項は無視した。Fourier 変換

$$\tilde{t}_l(q) \equiv \int e^{iqs} t_l(s) ds \quad (2.60)$$

を用いれば、エネルギーを normal mode で書くことができる。すなわち、

$$\frac{E}{k_B T} = \frac{1}{2} \int \frac{dq}{2\pi} [l_p q^2 + f] |\tilde{t}_l|^2 - fL \quad (2.61)$$

点 s における t_l^2 の平均値はエネルギー等分配則により、

$$\langle t_l^2 \rangle = \int \frac{dq}{2\pi} \langle |\tilde{t}_l(q)|^2 \rangle = 2 \int \frac{dq}{2\pi} \frac{1}{l_p q^2 + f} = \frac{1}{(fl_p)^{1/2}} \quad (2.62)$$

上式の係数 2 は t_l が 2 成分であることに由来する。これにより伸び x は

$$\frac{x}{L} = \hat{t} \cdot \hat{x} = 1 - \frac{\langle t_l^2 \rangle}{2} = 1 - \frac{1}{(4fl_p)^{1/2}} \quad (2.63)$$

これを書き換えると、force-extension の関係式として

$$fl_p = \frac{1}{4 \left(1 - \frac{x}{L}\right)^{1/2}} \quad (2.64)$$

力 f が強い場合、 x は $1/f^{1/2}$ に従って L に近づいていくことがわかる。これは FJC での強い力の場合の $(L-x) \sim 1/f$ とは対照的である。

以上の結果をまとめると、force-extension の公式が得られる。

$$\frac{fl_p}{k_B T} = \frac{x}{L} + \frac{1}{4 \left(1 - x/L\right)^2} - \frac{1}{4} \quad (2.65)$$

第 1 項は (2.55) 式の線形性に由来する項。第 2 項は (2.63) 式により、第 3 項は $x \rightarrow 0$ としたときに $f \rightarrow 0$ となるようにするための補正である。

2.2 一本鎖の動力学

2.2.1 Rouse 模型

溶媒中における高分子鎖の運動について、Rouse は 1953 年に一本鎖の緩和モードの概念を提唱した^[14]。それは次のようなモデルに基づいている。

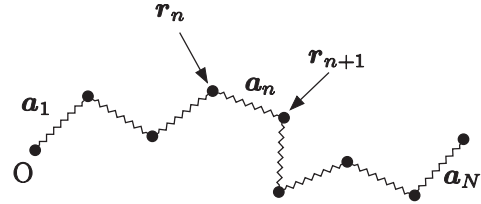


図 2-8 Rouse 模型

a. 理想鎖

Rouse は、ビーズ玉をバネで連ねたモデルを考えた。

玉の位置を $r_1, \dots, r_n, \dots, r_{N+1}$ とし、バネを表すベクトルを a_1, \dots, a_N とする(図 2-8)。物理的には、バネは十分に長く Gauss 統計に従うようなモノマーの連なり(すなわち、部分鎖)と考えることができる。部分鎖の弾性エネルギーは式(2.14)と類似の式で与えられる。

$$F_{n,n+1} = \frac{3k_B T}{2} \frac{(r_{n+1} - r_n)^2}{\langle (r_{n+1} - r_n)^2 \rangle} = \frac{3k_B T}{2} \frac{a_n^2}{a^2} \quad (2.66)$$

ここで、 a^2 は一つの部分鎖の平均の大きさである。全弾性エネルギーは、式(2.66)の和で与えられる。

$$F_{el} = \sum_{n=1}^N F_{n,n+1} \quad (2.66)$$

b. phantom chain

実際の鎖は自分自身を通り抜けることはできない。このような複雑さはこのモデルでは無視されており、「phantom chain」(幽霊鎖)として扱う。

c. 応答の局所性

各々のビーズ玉は、両隣のビーズ玉から力 φ_n を受けている。

$$\varphi_n = -\frac{\partial F_{el}}{\partial r_n} = \frac{3k_B T}{a^2} [(r_{n+1} - r_n) - (r_{n-1} - r_n)] \quad (2.67)$$

ビーズ玉 n の速度は、 n (とその近くの玉) に加えられた力の一次関数で与えられると仮定する。

$$\frac{\partial r_n}{\partial t} = \sum_m \mu_{nm} \varphi_m \quad (2.69)$$

ここで、 μ_{nm} は易動度の次元を持っており、 n が m に近いときのみ 0 でない(局所性の仮定)。そうすると、部分鎖を定義し直すことにより、 $n \neq m$ に対しては $\mu_{nm}=0$ として、 μ_{nn} のみを残すことができる。このように定義すれば、式 (2.68) は

$$\frac{\partial r_n}{\partial t} = \mu \varphi_n = \frac{3k_B T}{a^2} (r_{n+1} - 2r_n + r_{n-1}) \cong \frac{3k_B T}{a^2} \frac{\partial^2 r}{\partial n^2} \quad (2.68)$$

ここで、連続極限 $r_{n+1} - r_n \rightarrow \partial r / \partial n$ をとった。また、鎖の両端における境界条件は、

$$\left. \frac{\partial r_n}{\partial n} \right|_0 = \left. \frac{\partial r_n}{\partial n} \right|_N = 0 \quad (2.69)$$

である。

このようにして、以上の三つの仮定から、鎖の伸ばされた状態の緩和を記述する「Rouse 方程式」(2.72)が導かれた。これは線形方程式なので、解は固有モードに分解できる。

$$r_{np}(t) = \alpha_p \cos \frac{\pi p n}{N} \exp \left(-\frac{t}{\tau_p} \right) \quad (2.70)$$

ここで、 $p = 1, 2, \dots$ は整数で、 \cos は境界条件を満たすようにとった。 α_p はモードの振幅である。時間 τ_p はモード p の緩和時間で、次式で与えられる。

$$\frac{1}{\tau_p} = 3\pi^2 \frac{k_B T \mu}{a^2} \left(\frac{p}{N} \right)^2 = W \left(\frac{p}{N} \right)^2 \quad (2.71)$$

これは2次の分散関係($1/\tau_p \sim p^2$)を表す。Rouse 模型では、最も長い緩和時間 ($p = 1$) は N^2 のようにスケールすることがわかる。

Rouse 模型の限界

Rouse model を定義する三つの仮定は、必ずしも受け入れられるものではない。

- (i) 理想鎖の弾性の仮定は良溶媒中では正しくない。膨潤した鎖のバネ定数は理想鎖のバネ定数よりずっと小さい。
- (ii) phantom chain の仮定の意味は、鎖に沿って起こる交差の効果を全て無視することである。これは、良溶媒中では正しいかも知れないが、 Θ 溶媒中では怪しくなる。後者の場合、コイルはずっと詰まっていて、多大に交差する傾向が強い。
- (iii) 局所応答の仮定は、「誘導流効果 (back flow effects)」のため正しくない。流体中のモノマーに力 \mathbf{f}_n が加わると、その結果流体全体の速度場が乱される。この「誘導流」は緩和モードの構造を大きく変える。

Rouse 方程式 (2.70) は方程式が線形であったためモードは自然に出てきた。しかし、このモデルの三つの仮定についてそれぞれ上に述べたような補正をしたとすれば、方程式は非線形となって全てのモードが混じり合うであろう。これに対し、de Gennes は、「動的スケーリング」によって、多くの重要でない詳細を捨て、特定のモデルによらず成り立つ法則を導き出した。以下でこれを見ていくことにする。

2.2.2 良溶媒中の動的スケーリング鎖の易動度についての Kirkwood 近似^[15]

一本鎖の易動度 μ_{chain} を実験的に測定するには、鎖に一定の力 f_{tot} を加え、それによって生ずるドリフト速度 V を測定する(沈降、電気泳動、etc.)。鎖の形が変わらない程度の弱い力では、

$$V = \mu_{\text{chain}} f_{\text{tot}} \quad (2.74)$$

となる。

もう一つの、これに関連したパラメーターは、鎖の拡散係数 D である。これは、濃度分布の直接測定か、あるいはもっと簡便には、レーザー光の非弾性散乱によって測定される。拡散係数は易動度と Einstein の公式：

$$D = \mu_{\text{chain}} T \quad (2.75)$$

で関係している。

D を理論的に取り扱う場合の厳密なよい出発点は、 D と速度 V の (Brown 運動による) 自発的ゆらぎを関連づける公式である。3 次元では、

$$D = \frac{1}{3} \int_{t_1}^{\infty} \langle V(t_1) \cdot V(t_2) \rangle dt_2 \quad (2.76)$$

となる。ここでは $\langle \rangle$ は熱平均を表す。 $V(t)$ は鎖の重心の速度で、全てのモノマーの平均で表せる。

$$V(t) = \frac{1}{N} \sum_n v_n = \frac{1}{N} \int c(r, t) v(r, t) dr \quad (2.77)$$

c は局所的なモノマー濃度で、 v は局所的な速度である。 v はモノマーの速度であるが、同じ場所での溶媒の速度と解釈することもできる。式(2.77)を式(2.78)に代入すると、

$$D = \frac{1}{3} N^{-2} \int_{t_1}^{\infty} \langle c(r_1, t_1) c(r_2, t_2) v(r_1, t_1) v(r_2, t_2) \rangle dr_1 dr_2 dt_2 \quad (2.78)$$

を得る。

Kirkwood は、式(2.78)に対して次のような近似を施した。

- (i) 相関関数 $\langle cc vv \rangle$ を濃度の部分と速度の部分に分離し、いわゆる“モード-モード結合”を用いる。
- (ii) 重要な時間依存性は相関関数の $\langle vv \rangle$ の部分に含まれており、 $\langle cc \rangle$ は同時刻のものを用いてよいと仮定する。
- (iii) 速度相関は純粋溶媒で計算する。すなわち、 $\langle vv \rangle$ への高分子の影響を全て無視する。詳しい導出は省略するが、これらの近似により、拡散係数 D に関して、次のような関係が導かれた。

$$D = \text{const.} \times \frac{k_B T}{6\pi\eta_s R} \quad (2.79)$$

この関係は、鎖の摩擦係数(易動度の逆数)に対するものに書き換えられる。

$$\zeta_{tot} = \mu^{-1} = \frac{k_B T}{D} \cong 6\pi\eta_s R \quad (2. 80)$$

これは、半径 R の球のものと非常によく似ている。すなわち、Kirkwood 近似では、鎖は慣性半径に比例する流体力学的半径をもっていると結論できる。

基本的緩和時間

Kirkwood 近似では、一本鎖は流体力学的半径 R をもち、それは幾何学的半径と同様にスケールする。

$$R \sim N^{\frac{1}{2}} \quad (\Theta \text{ 溶媒, } v=0) \quad (2. 72)$$

$$R \sim N^{\frac{3}{5}} \quad (\text{良溶媒, } \frac{v}{a^3} \sim 1) \quad (2. 73)$$

この半径に拡散係数 $D = k_B T / 6\pi\eta_s R$ が関連しており、 D と R から特徴的な時間

$$\tau = \frac{R^2}{D} = \frac{6\pi\eta_s R}{k_B T} \quad (2. 74)$$

を作ることができる。

基本的緩和時間 τ の意味を理解するのに、Kuhn によって導入された、亜鈴 (dumbbell) モデル^[16-18]が有用である。このモデルでは、鎖のビーズの位置を与える変数 r_1, \dots, r_{n+1} は全て度外視し、全体の伸び $r \equiv r_{n+1} - r_1$ という一つの変数のみに注目する。すると、鎖全体が一つのバネで、その弾性エネルギーは

$$F_{el} = \frac{1}{2} K r^2 \quad (2. 75)$$

であり、その伸び縮みに対して摩擦係数 ζ_{tot} があるものと考えられる。バネに働く摩擦力は $\zeta_{tot} \partial r / \partial t$ で、これが弾性力と釣り合う。

$$\zeta_{tot} \frac{\partial r}{\partial t} = -K r \quad (2. 76)$$

これより、鎖の変形に対する特徴的な緩和時間が導かれる。

$$\tau = \frac{\zeta_{tot}}{K} \quad (2. 77)$$

$K \equiv k_B T / R_0^2$ (理想・phantom 鎖、式(2.14))、 ζ_{tot} (個々の摩擦の加法性) を仮定すれば、Rouse 模型となつて、

$$\tau \sim N^2 \quad (2. 78)$$

を得る。

Kirkwood 近似では、摩擦は $\zeta_{\text{tot}} \sim 6\pi\eta_s R$ となる。鎖自身は phantom chain ($\mathbf{R} = \mathbf{R}_0$) であるとする
と、

$$\tau = \frac{6\pi\eta_s R_0^3}{k_B T} \quad (2.79)$$

となる。この場合のモードの構造は Zimm 模型によって詳細な計算がなされた^[19]。良溶媒中の
実在鎖については Kirkwood 近似では $\zeta_{\text{tot}} = 6\pi\eta_s R_F$ を用いるべきで、また、バネ定数は式 (2.84) か
ら $K \sim k_B T / R_F^2$ となり、

$$\tau = \frac{6\pi\eta_s R_F^3}{k_B T} \quad (2.89)$$

を得る。

式 (2.88)、(2.89) は一般のスケーリング公式 (2.83) に一致している。

以上をまとめ、表 2-2 に各模型の一本鎖弾性係数 k 、粘性係数 η 及び緩和時間 τ の重合度 N
依存性を示す。Rouse モデルは弾性としては理想鎖を仮定し、粘性としてはすぬけとする。Zimm
モデルは理想鎖を仮定するが、粘性としては剛体球を仮定する。Kirkwood モデルは剛体球近似
ではあるが、そのサイズとしては実在鎖を仮定する。

表 2-2 一本鎖の動力学模型

	k	η	$\tau = \eta/k$
Rouse ^[14]	$\sim N^{-1}$	$\sim N$	$\sim N^2$
Zimm ^[19]	$\sim N^{-1}$	$\sim N^{0.5}$	$\sim N^{1.5}$
Kirkwood ^[15]	$\sim N^{-1.2}$	$\sim N^{0.6}$	$\sim N^{1.8}$

2.3 ポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM)

感温性高分子である PNIPAM の水溶液は 31°C の下部臨界相溶温度 (LCST) を示すが、生理温度に近いためドラッグデリバリーのベースポリマーとして期待され、医学や薬学の分野で広く応用されている。PNIPAM 高分子の側鎖が親水性のアミド基と疎水性のイソプロピル基をもち、低温では親水性のアミド基と水分子が水素結合を形成して、水中に溶解できる。温度がある程度上がると、この水素結合が溶媒分子と疎水性のイソプロピル基の熱運動により破壊されて高分子鎖の水和量が低下する。その結果、疎水相互作用により高分子鎖のコイルーグロビュール転移が起こり、この相転移の温度を下部臨界相溶温度 (LCST) と言われる。さらに、PNIPAM 水溶液にメタノールを混合すると、メタノールは PNIPAM の良溶媒であるにも拘わらず鎖の収縮^[19]、ゲルの相転移^[20, 21]、相分離の誘起^[22]などの貧溶媒性を示す。良溶媒を二種混合すると貧溶媒になる現象は共貧溶媒性(cononsolvency)と呼ばれる。

過去の十数年間に、研究者たちが蛍光法^[23]、分光法^[24]、光散乱^[25]、および熱量測定^[26]を用いて、PNIPAM 感温性と共貧溶媒性のメカニズムを研究し、さまざまな理論とモデルが提出された。例えば、勝本らは^[27] IR 分光法と量子化学計算の組み合わせを用いて、分子内の $C=O \cdots H-N$ 個の水素結合が PNIPAM の相挙動において重要な役割であることを示唆した。Zhang と Wu^[20] は水とメタノール化学量論的な五角形の複合体の形成が共貧溶媒性の原因であると提案した。最近では、田中ら^[28, 29]が、PNIPAM 高分子の協同水和理論を構築して特異な LCST 現象を説明するのに成功した。さらに、協同水和理論に基づいて、共貧溶媒性を説明するための競合的水素結合モデルを提出した。次は、この二つの理論を説明する。

2.3.1 協同水和理論^[28]

協同水和とは、1 個の水分子が PNIPAM の側鎖親水基と水和すれば、その場所の疎水基が移動し、隣接するアミド基に 2 個目の水分子が結合し易くなり、水素結合の連鎖が形成される傾向が生じるということである。逆に、脱水和の場合にはひとつながりの連鎖として脱水和するため、急激に相転移が起こる。図 2-9 に協同水和理論の帰結としてのパールネックレスモデルの模式図を示す。コイルーグロビュール転移の特性を解析するために、まず単一鎖の分配関数 $Z_n(T)$ から出発して、水和量や平均末端間距離を温度の関数として求めよう。

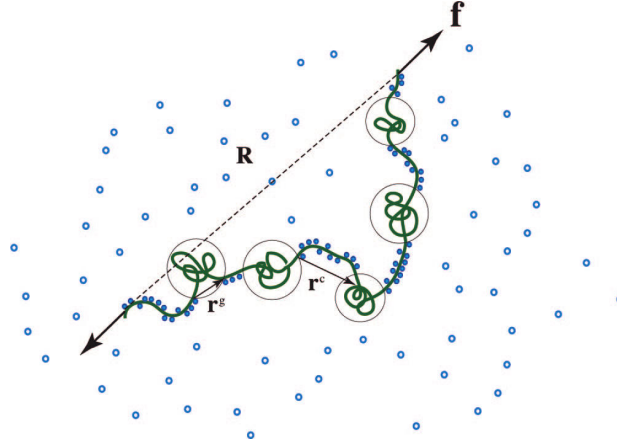


図 2-9 パールネックレスモデルによる協同水和理論

末端間ベクトルが R に固定された分配関数は

$$Z_n(T, R) = \sum_{i,j} \omega(i, j) \prod_{\xi} (\lambda_{\xi})^{i_{\xi}} (\eta_{\xi})^{j_{\xi}} \int \cdots \int \prod_i \rho_i^g(r_i^g) dr_i^g \prod_i \rho_j^c(r_j^c) dr_j^c \quad (2.90)$$

となる。グロービュールセグメントの数が指数 $i = \{i_1, i_2, \dots\}$ で、水和コイルセグメントの数が指数 $j = \{j_1, j_2, \dots\}$ で表される（1セグメントが ξ 個のモノマーがある）。ここで

$$\omega(i, j) = \frac{(\sum_{\xi} i_{\xi})! (\sum_{\xi} j_{\xi})!}{\prod_{\xi} i_{\xi}! \prod_{\xi} j_{\xi}!} \quad (2.91)$$

$\omega(i, j)$ はグロービュール部分とコイル部分を交互に配列する可能な方法の数で、水和のエントロピーと関連している。 λ_{ξ} と η_{ξ} はそれぞれ ξ 個のモノマーからなるグロービュールと水和膨潤鎖の統計重率を表す。また、 $p_i(r_i)$ はそれぞれのタイプの末端間ベクトル分布関数で、 $R = \sum_i r_i^g + \sum_j r_j^c$ の関係がある。グロービュール 1 個の自由エネルギーは γ を表面張力とすると、 $\Delta f_{\xi} = -\epsilon \xi + \gamma \xi^{2/3}$ の形になるので、その統計重率は

$$\lambda_{\xi}(T) = e^{-\gamma \xi^{2/3}} \lambda(T)^{\xi} \quad (2.92)$$

となる。協同水和効果を表すために、水素結合のエネルギーを $-\epsilon$ 、水素結合により隣接した二つの水分子間の相互作用のエネルギーを一ム $-\Delta \epsilon$ とすると、水素結合連鎖一つ当たりの統計重率は

$$\eta_{\xi} = \sigma \eta(T)^{\xi} \quad (2.93)$$

となる。ここで、 $\sigma = \exp(-\beta \Delta \epsilon)$ は協同性のパラメータで、 σ の値が小さくなるほど協同性が増す。 $\beta = 1/k_B T$ 、 $\eta(T) = \exp[-(\epsilon + \Delta \epsilon)/k_B T]$ は水素結合の結合定数である。図 2-10 に水和量

$\theta = \sum_{\xi=1}^n \xi j_{\xi} / n$ と平均末端間距離の温度依存性を示している。

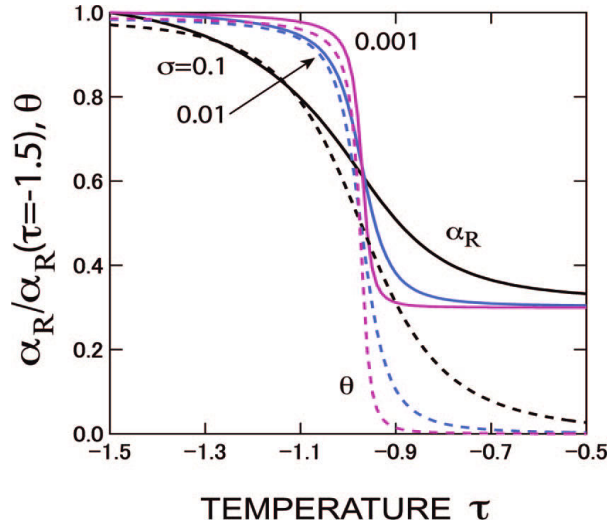


図 2-10 水和量と平均末端間距離の温度依存性

外力(張力)誘起コイルグロビュール転移

力 f でランダムコイルとグロビュールが共存する PNIPAM 鎖の両端を伸長すると(図 2-9)、グロビュール部分は鎖が伸ばされ、溶媒の水にさらされる。伸ばされた部分は水と接触するので水和状態になり、グロビュールセグメントからランダムコイルセグメントに移行することになる。同一の部分鎖長で比べると、グロビュール状態での末端間距離よりも水和ランダムコイルの末端間距離の方が大きいので、張力により鎖は全体として伸長する。式 (2.90) の分配関数に張力因子を組み込み、張力を独立変数とする分配関数

$$Q_n(T, f) \equiv \int dR Z_n(T, R) e^{\beta f \cdot R} \quad (2.94)$$

に移行する高分子鎖統計の標準的な手法により平均末端間距離並びに水和量を算出できる。図 2-11 は 平均末端間距離 R/na を無次元化した張力 $t \equiv fa/k_B T$ の関数としてプロットしたものである(a はモノマーのサイズ)。換算温度 $\tau \equiv 1 - \Theta_0/T$ で $\tau = -1.5$ (水和状態)、 $\tau = -0.5$ (部分的に収縮したグロビュール状態)、 $\tau = 0$ (全体が収縮したグロビュール状態)の 3 つについて張力-伸長曲線が表示されている。

特に興味深いのは、部分収縮状態にある鎖に張力を作用させると、ある臨界張力 t_c で末端間距離が急激に増加する「引き抜き領域」が出現することである。引き抜き領域は張力を末端間距離に対してプロットしたグラフでは平坦部(プラトー)となって現れる。すなわち、プラトーの出現とその場所が外力によるグロビュールの消滅領域と考えられる。臨界張力はコイルグロビュール転移温度からの温度差 $\Delta\tau \equiv \tau - \tau_c$ に依存し $t_c \sim |\Delta\tau|^{1/2}$ のような変化をする。

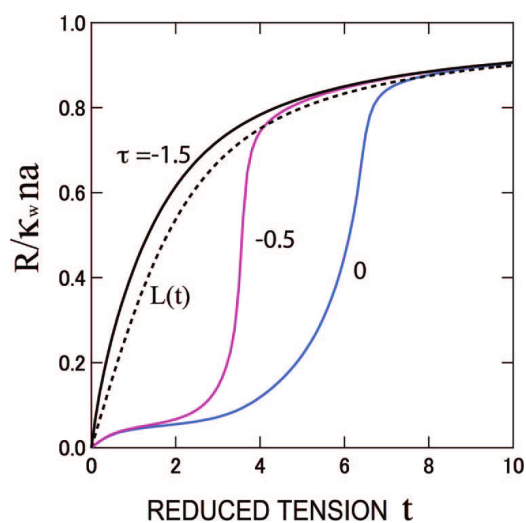


図 2-1 1 平均末端間距離を無次元化した張力の関数

2.3.2 競合的水素結合理論^[29]

水とメタノールの混合溶媒系ではメタノールのモル分率が 0.35 あたりで貧溶媒性が顕著となり、メタノール過多領域では良溶媒性に移行する。純水の場合と違い、グロビュール部分が二種の膨潤した部分鎖(水和鎖とメタノール水素結合鎖)により連結されたパールネックレスコンフォメーションを仮定する(図 2-1 2)。溶媒混合率(メタノールのモル分率で x_m) のもとで、水和率は $\theta^{(w)}$ 、メタノールによる水素結合率が $\theta^{(m)}$ 、またメタノールの水素結合は協同性パラメータ σ_m で表されるものとする。結合分子が全鎖長に占める割合は $\theta = \theta^{(w)} + p\theta^{(m)}$ で与えられる。メタノール分子の体積は水分子の体積の p 倍であるとした。

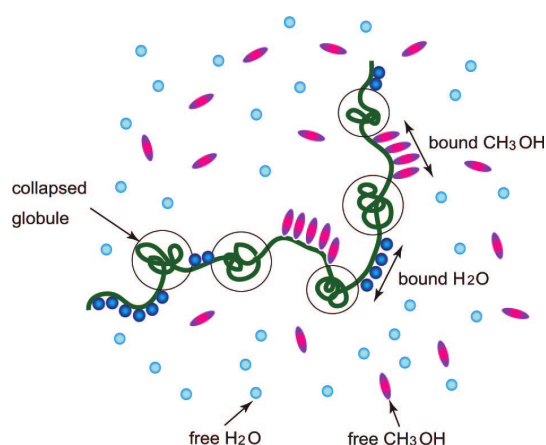


図 2-1 2 パールネックレスモデルによる競合的水素結合理論

分配関数を最大にする熱平衡分布は、水に対して $j_{\xi}^{(w)} / n = (1 - \theta) \eta_{\xi}^{(w)} t (\lambda_w t)^{\xi}$ 、メタノールに対して $j_{\xi}^{(m)} / n = (1 - \theta) \eta_{\xi}^{(m)} t (\lambda_m t)^{\xi}$ となる。ここで t は Zimm-Bragg の均衡条件

$$\frac{t}{1-t} \left\{ V_0^{(w)}(\lambda_w t) + V_0^{(m)}(\lambda_m t^p) \right\} = 1 \quad (2. 95)$$

を満たす解である^[30]。この解 t を用いると全被覆率は

$$\theta = 1 - 1 / \left\{ 1 + t \left[V_1^{(w)}(\lambda_w t) + p V_1^{(m)}(\lambda_m t^p) \right] \right\} \quad (2. 96)$$

平均 2 乗末端間距離は

$$\langle R^2 \rangle = (a n^{\nu_G})^2 \left[1 - \theta_w(\lambda_w t) - \theta_m(\lambda_m t) \right] + \left[\kappa_w^2 \bar{\xi}_w^{2\nu_F-1}(\lambda_w t) \right] \theta_w(\lambda_w t) + p \left[\kappa_w^2 \bar{\xi}_w^{2\nu_F-1}(\lambda_w t^p) \right] \theta_w(\lambda_w t^p) \quad (2. 97)$$

から計算することができる。ここで $\langle R^2 \rangle_c^{1/2} \equiv a n^{\nu_G}$ はグロビュール状態での平均 2 乗末端間距離で、 $\bar{\xi}^{2\nu_F-1}(x) \equiv V_{2\nu_F}(x) / V_1(x)$ は各溶媒成分の鎖上での連鎖長、 κ は膨潤状態と凝集状態でのモノマー当たりのステップ長の比である。指数 $\nu_F = 3/5$ は Flory 指数、 $\nu_G = 1/5$ はグロビュール状態の指数である。溶媒のメタノール組成を変えると、鎖上に吸着する分子数も変化するが、水素結合に協同性がある場合には吸着に競合が起こり、バルクの混合組成のわずかな差が鎖上では非線型的に拡大される。図 2-1 3 (左) では水和率(破線)と平均末端間距離に関する膨張因子(実線)をメタノール組成に対してプロットし、協同性により競合が増大する結果として吸着総量が激減する様子を示す。図 2-1 3 (右) は理論計算と巨大分子を用いた実験結果(丸印)とを比較検討してある。メタノールのモル分率が 0.15 当たりで急に脱水和しコイルが収縮する。凝集状態がモル分率 0.5 当たりまで続き、メタノールの良溶媒性が回復して鎖は急激にコイル状態にもどる。

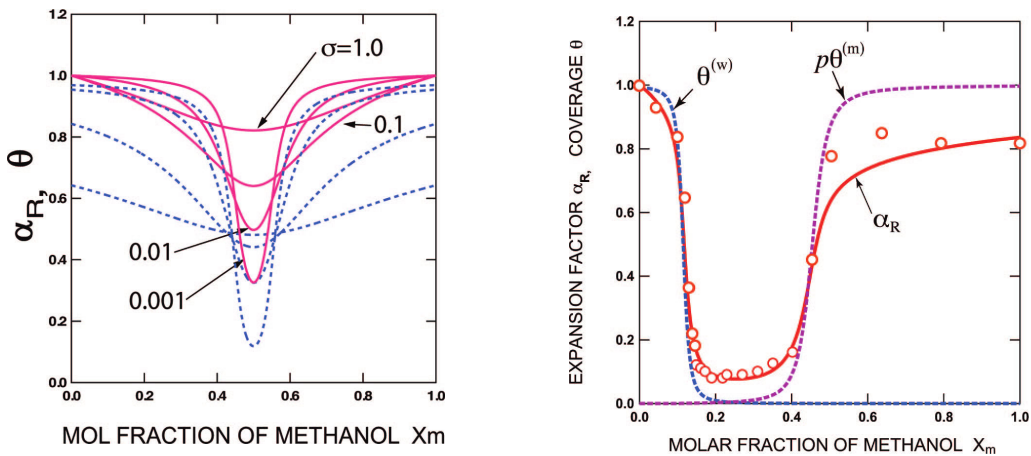


図 2-1 3 水和率(破線)と膨張因子(実線)のメタノール組成の関数(左)と理論計算と実験結果(丸印)の比較(右)

2.4 ナノ力学分析の理論

2.4.1 タッピングモード

タッピングモードは、AFMの動作モードとして最も標準的なモードである。AFMのカンチレバーをその共振周波数近傍で強制振動させ、探針を間欠的に試料に接触させると、カンチレバーと試料との相互作用により振幅が A_0 から A に減少し、また位相のずれ ϕ が生じる。タッピングモードにおけるカンチレバーと試料の運動^[31,32]は、バネと質点（減衰調和振動子）として記述でき、次の運動方程式が書ける。

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} + \frac{m\omega_0}{Q} \frac{dz}{dt} + m\omega_0^2 z = mA_d \omega^2 \cos \omega t \quad (2.98)$$

ここで、 m は系の有効質量で、 Q はシステムの Q 値で、振幅の周波数応答から振動の鋭さとして定義されるものである。カンチレバー入力 E_{ext} と出力 E_{probe} が運動方程式から算出でき、

$$E_{ext} = \int_0^T F_{ext} \frac{dz}{dt} dt = \frac{\pi k}{Q} A_0 A \sin \phi \quad (2.99)$$

$$E_{probe} = \int_0^T \frac{m\omega_0}{Q} \left(\frac{dz}{dt} \right)^2 dt = \frac{\pi k}{Q} \frac{\omega}{\omega_0} A^2 \quad (2.100)$$

となる。すると、エネルギー散逸 E_{dis} は入力と出力のエネルギー差として振幅の変化と位相差から算出でき、

$$E_{dis} = \frac{\pi k}{Q} A_0 A \left(\sin \phi - \frac{\omega}{\omega_0} \frac{A}{A_0} \right) \quad (2.101)$$

ここで k はカンチレバーのバネ定数で、 ω_0 、 ω 及び A_0 、 A は周波数と振幅で、0の添字がある方が自由な共振状態での値ということである。

タッピングモードによるエネルギー散逸 E_{dis} は試料の硬さ、粘弾性や凝着ヒステリシス、試料の起伏などのさまざまな要因が組み合わさったものである。

2.4.2 弾性体接触の理論

第1章で、ナノ触診 AFM を用いて、探針の押し込みによる微小なスケールでの試料の応力-変形量の関係が得られることを述べた。このような二つの物体間接触において材料物性を評価するためには、連続体力学の弾性体接触モデルが用いられる。AFM による応力-変形曲線から試料のナノ力学物性を評価していく試みにもこれらの接触モデルを適用してきた。以下に、本研究では用いられる三つ弾性体接触モデルを説明する。

a. Hertz モデル^[33]

1881 年、Hertz^[33]によって提唱された 2 つの弾性連続体曲面同士の接触理論である。これをもとにした多くの応用理論が存在する。Hertz モデル（図 2-1 4）は、異なる半径の球体同士を接触させた場合の荷重 F 、接触半径 a 、押し込み深さ δ の関係を次式で示した。

$$a^3 = \frac{RF}{K} \quad (2. 102)$$

$$\delta = \frac{a^2}{R} \quad (2. 103)$$

ここで、 R と K はそれぞれ有効半径、弾性定数である。フォース測定における試料の接触半径を測定することはできないが、式 (2. 102)、(2. 103) から得られる荷重 F と押し込み量 δ の関係式

$$F = KR^{1/2} \delta^{3/2} \quad (2. 104)$$

$$K = \frac{4}{3} \frac{E}{(1-\nu^2)} \quad (2. 105)$$

を用いてフィッティングすることで弾性率を導出することができる。ここで、 E がヤング率、 ν がポアソン比である。

ところで、Hertz モデルは凝着の影響を無視しているが、弾性変形する物体の力学物性が評価できる。試料がゴム等のような「ソフトマテリアル」である場合、弾性に加え強い凝着や粘弾性的挙動などが影響し、その問題は単純ではない。そのため、凝着を考慮したモデルとしては

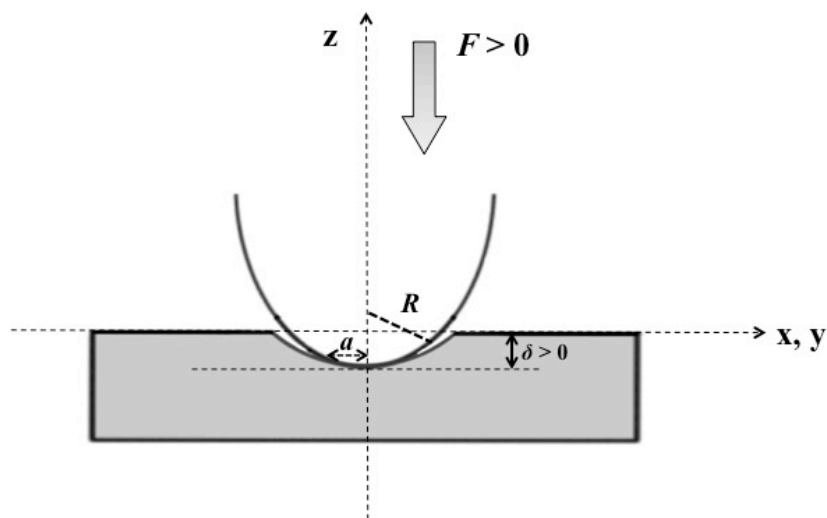


図 2-1 4 弾性接触の Hertz モデル

Derjaguin, Muller, Toporov^[34]らによるモデル(DMT モデル)、Johnson, Kendall, Roberts^[35]らによるモデル (JKR モデル) が提出された。

b. DMT モデル^[34]

DMT モデルは式 (2. 103)を継承している。一方で、接触面凝着エネルギー w を導入し、接触半径 a と荷重 F の関係は、

$$a^3 = \frac{R}{K}(F + 2\pi wR) \quad (2. 106)$$

として与えられる。式 (2. 103)より a を消去すると、

$$F = KR^{1/2}\delta^{3/2} - 2\pi wR \quad (2. 107)$$

の形になる。

c. JKR モデル^[35]

凝着が強い場合には、この効果が二つの表面間の接触面積に影響を与える。すなわち、凝着が大きくなると、AFM プローブと試料の間の接触面積が大きくなる。JKR モデル (図 2-15) では、接触半径自体が凝着力により増加すると見なして、接触線の半径 a と対称軸上の変形量 δ の関係は以下の式で表せる。

$$a^3 = \frac{R}{K} \left(F + 3\pi wR + \sqrt{6\pi wRF + 3(\pi wR)^2} \right) \quad (2. 108)$$

$$\delta = \frac{a^2}{3R} + \frac{2F}{3aK} \quad (2. 109)$$

$$K = \frac{4}{3} \frac{E}{(1-\nu^2)} \quad (2. 110)$$

ここで、 K が弾性定数で、 E がヤング率で、 w が凝着エネルギーで、 ν がポアソン比である。

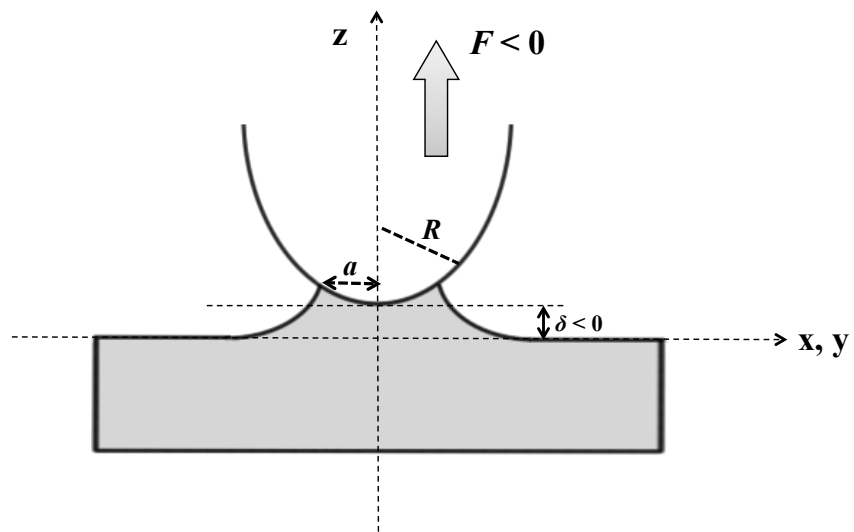


図 2-1 5 弾性接触の JKR モデル

参考文献

- [1] W. J. Orr, *Trans. Faraday Soc.*, **43**, 12 (1947).
- [2] P. J. Flory, *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, John Wiley & Sons, New York, 1969.
- [3] W. Stockmayer, "Dynamics of Chain Molecules" in *Fluides Moléculaires*, R. Balian and G. Weill, Eds., Gordon & Breach, New York, 1976.
- [4] J. des Cloiseaux, *Phys. Rev. A*, **10**, 1665 (1974).
- [5] S. B. Smith; L. Finzi; C. Bustamante, *Science*, **258**, 1122 (1992).
- [6] C. Bustamante; J. F. Marko; E. D. Siggia; S. Smith, *Science*, **265**, 1599 (1994).
- [7] J.F.Marko; E.D.Siggia; *Macromolecules*, **28**, 8759 (1995).
- [8] S. B. Smith; Y. Cui; C. Bustamante, *Science*, **271**, 795 (1996).
- [9] T. Odijk, *Macromolecules*, **28**, 7016 (1995).
- [10] M. D. Wang; H. Yin; R. Landick; J. Gelles; S. M. Block, *Biophys. J.*, **72**, 1335 (1997).
- [11] B. Zhang; J. S. Evans; *Biophys. J.*, **80**, 597 (2001).
- [12] 田中 文彦、高分子の物理学、裳華房、 1994.
- [13] G. Porod, *Monatsh. Chem.*, **80**, 251 (1949).
- [14] P. E. Rouse, *J. Chem. Phys.*, **21**, 1273, (1953).
- [15] J. Kirkwood; J. Reiseman, *J. Chem. Phys.*, **16**, 565 (1948).
- [16] W. Kuhn; H. Kuhn, *Helv. Chim. Acta.*, **28**, 1533 (1945).
- [17] W. Kuhn; H. Kuhn, *Helv. Chim. Acta.*, **29**, 71 (1946).
- [18] W. Kuhn; F. Grun, *Kolloid-Z.*, **101**, 248 (1942).
- [19] B. Zimm, *J. Chem. Phys.*, **24**, 269 (1956).
- [20] G. Zhang; C. Wu, *Macromolecules*, **123**,1376 (2001).
- [21] S.Hirotsu, *J.Phys.Soc.Jpn.*, **56**,23(1987).
- [22] S.Hirotsu, *J.Chem.Phys.*, **88**, 427(1989).
- [23] F. M. Winnik; M. F. Ottaviani; S. H. Bossmann; M. G. Garibay; N. J. Turro, *Macromolecules*, **25**, 6007 (1992).
- [24] F. M. Winnik, *Macromolecules*, **23**, 233 (1990).
- [25] Y. Katsumoto; T. Tanaka; H. Sato; Y. Ozaki, *J. Phys. Chem. A*, **106**, 3429 (2002).
- [26] X. Wang; C. Wu, *Macromolecules*, **32**, 4299 (1999).
- [27] E. I. Tiktopulo; V. E. Bychkova; J. Ricka; O. B. Ptitsyn, *Macromolecules*, **27**, 2879 (1994).
- [28] Y. Okada; F. Tanaka, *Macromolecules*, **38**, 4465 (2005).
- [29] F. Tanaka; T. Koga; H. Kojima; F. M. Winnik, *Macromolecules*, **42**, 1321 (2009)
- [30] B. H. Zimm; J. K. Bragg, *J. Chem. Phys.*, **31**, 526 (1959).

- [31] J. Tamayo, R. García: *Appl. Phys. Lett.*, **73**, 2926 (1998).
- [32] B. Anczykowski; B. Gotsmann; H. Fuchs; J. P. Cleveland; V. B. Eling: *Appl. Surf. Sci.*, **140**, 376 (1999).
- [33] H. Hertz; *J. Reinr. Angew. Math.*, **92**, 156 (1882).
- [34] B. V. Derjaguin; V. M. Muller; Y. P. Toporov, *J. Colloid Interface Sci.*, **53**, 314 (1975).
- [35] K. L. Johnson; K. Kendall; A. D. Roberts, *Proc. Roy. Soc. London Ser. A.*, **324**, 301 (1971).

第3章 実験

3.1 原子間力顕微鏡 (AFM)

3.1.1 装置構成

AFM は、カンチレバーと呼ばれる小さなこの先端に取り付けられた探針と試料表面の間に働く原子間力を用いてこの反りとして計測する顕微鏡である。カンチレバーの反りを一定とするフィードバックをかけながら試料表面をなぞることで、試料表面の形状を記録できる。このカンチレバーの反りを検出する方法としては、主にカンチレバーと金属探針間のトンネル電流を測る STM 方式、レーザー光の干渉を測る光干渉方式及び反射角変化を測定する光てこ方式がある。

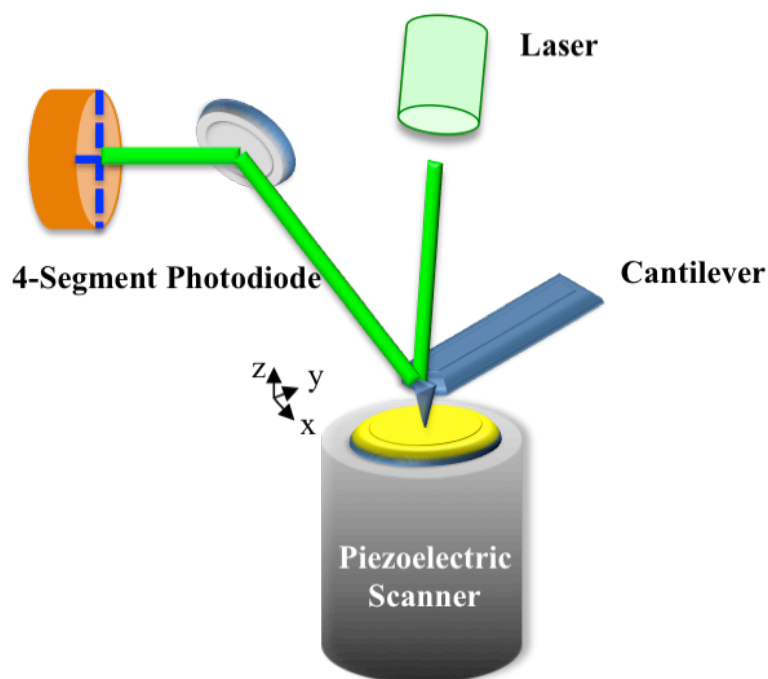


図 3-1 光てこ方式によるカンチレバーたわみの検出

現在では、光てこ方式(図 3-1)が主流である。これは、カンチレバーのたわみによる光の反射角の変化を、上下に分割したフォトダイオードに入射する光の相対強度の変化として検出するというものである。レンズやフォトダイオードとカンチレバーとの距離が数 mm から数 cm と広く取れること、また左右にも分割した 4 分割フォトダイオードを用いることによって水平方向の力によるカンチレバーの捩れも検出可能であることから、この検出方法は現在、大半の市販 AFM 装置で採用されている。

本研究では、測定に使用した AFM 装置が Bruker MultiMode AFM (Nanoscope V)であり、E-sacnner (最大走査範囲：xy 15 μ m, z 2.5 μ m)を用いた。ナノフィッシングの実験では、液中測定を行うため、液中セルを使用し、さらに、バイオヒーターシステムで 20 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ Cの範囲で温度調整を行った。

3.1.2 カンチレバー

カンチレバーの材質・形状などに基づいて有限要素法により、カンチレバーのバネ定数の公称値が計算される。しかし、実際にはカンチレバーごとにバネ定数が多少ばらつき、特に軟らかいカンチレバーのバネ定数のばらつきが大きくなるから、信頼性が低い。そこで、使用前にキャリブレーションをすることが必要である。これまでにバネ定数のキャリブレーションの方法は数多く提案されている^[1-7]。その中で、Hutter らによって提唱されたカンチレバーの熱ゆらぎによりバネ定数を求める方法^[2]はよく用いられている。

平衡状態にある調和振動子は、媒介の熱雑音によりゆらぐ。そのような系のハミルトニアン H は q, p, m, w_0 をそれぞれ振動子の変位、運動量、質量、共振角周波数として次式で表される。

$$H = \frac{p^2}{2m} + \frac{1}{2}m\omega_0^2 q^2 \quad (3.1)$$

エネルギー等分配則より、ハミルトニアンの 2 次の項は $k_B T/2$ に等しい。したがって、

$$\left\langle \frac{1}{2}m\omega_0^2 q^2 \right\rangle = \frac{1}{2}k_B T \quad (3.2)$$

振動子のバネ定数を k とすると $\omega_0^2 = k/m$ であるから、振動子の変位の 2 乗平均を計測することによりバネ定数を以下のように決定できる。

$$k = \frac{k_B T}{\langle q^2 \rangle} \quad (3.3)$$

バネ定数を求めるには、カンチレバーのパワースペクトルを測定する。パワースペクトルの積分値は変位の 2 乗平均に等しいので、熱ゆらぎの共振ピークの面積 P を求めればよい。したがって、カンチレバーのバネ定数 k は以下の式で求められる。

$$k = \frac{k_B T}{P} \quad (3.4)$$

本研究で用いたカンチレバーのバネ定数はすべてこの方法を用いてキャリブレーションを行った。

a. ナノフィッシングに用いたカンチレバー

ナノフィッシングで、チオール基と金の特異的吸着により高分子鎖を挟むため、金コートのカンチレバーを用いた。カンチレバーは市販の Olympus 製 BL-RC150VB (図 3-2 左) (共振周波数約 30 kHz、バネ定数 0.03 N/m)を使用した。液中での共振周波数は溶媒の粘性のために 8-10 kHz 程度になる。

b. ナノ触診に用いたカンチレバー

タッピングモードの実験には Veeco (USA) 製 MPP-11100 (図 3-3 右) (共振周波数約 300 kHz, バネ定数 20-80 N/m)を用いた。カンチレバーの形状は短冊状で、探針は円錐状であり、先端の半頂角は 35° 、先端半径は 8-15nm である。今回の測定では硬いセグメントと軟らかいセグメントをもつスチレン-エチレンブチレン-スチレン共重合ブロックコポリマー(SEBS)を 1 種類のカンチレバーで測定するため、中間的な Veeco (USA) 製 NPG-10 (共振周波数 18-65 kHz、バネ定数 0.32 N/m)を用いた。カンチレバーの形状は三角形で、探針は円錐状であり、先端の半頂角は 25° 、先端半径は 10nm である。

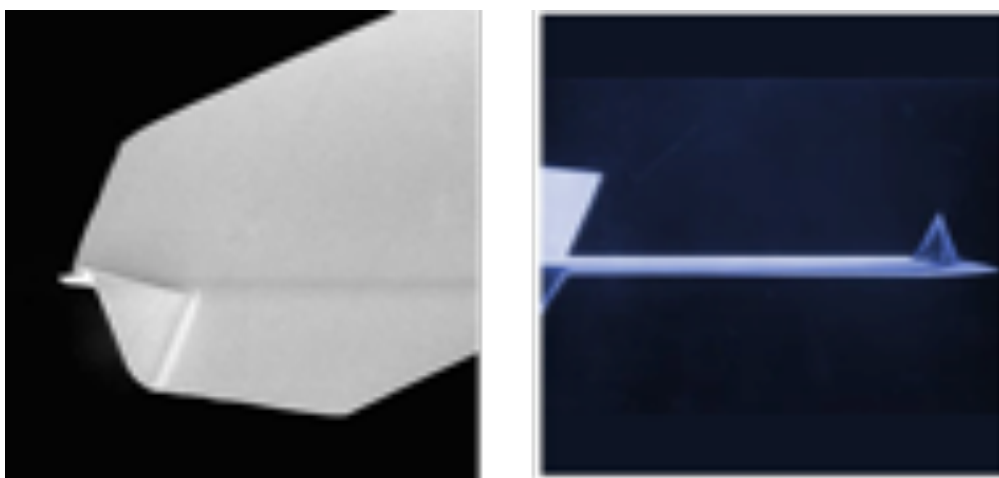


図 3-2 カンチレバーの SEM 写真。Olympus 製 BL-RC150VB (左) と Veeco 製 MPP-11100 (右)

3.2 試料

3.2.1 ナノフィッシングの試料

基板と AFM 探針の間に高分子鎖を挟み込み、分子を伸長するため、まず、高分子鎖の両末端をそれぞれ基板、カンチレバーに吸着させることが必要である。吸着方法として主に物理吸着^[8]と化学吸着^[10]がある。その中で、物理吸着は吸着力が小さいことや、分子鎖の両末端を挟み込むことが保証できないなど欠点がある。一方、化学吸着でこれらの問題をよく解決できるため、一本鎖の実験に対して高い精度の物性情報を提供することができる。そこで、本研究では、分子鎖の両末端をチオール化した試料を用いて、金-チオール結合により末端のチオール基が基板、探針に化学吸着する系を採用した。

a. 準静的ナノフィッシングに用いた試料 (HS-PNIPAM-SH)

準静的ナノフィッシングでは、医学や薬学の分野で広く利用されている、水溶性で温度感応性をもつ高分子であるポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM) を機能性高分子メカニズムの研究対象として行った。金-チオール基間の特異的な吸着によって分子鎖を伸長するため、カナダモントリオール大の Winnik 研によって合成された、単分散の両末端チオール修飾 PNIPAM^[11]を本研究では利用した。図 3-3 に PNIPAM の構造と分子量情報を示す。

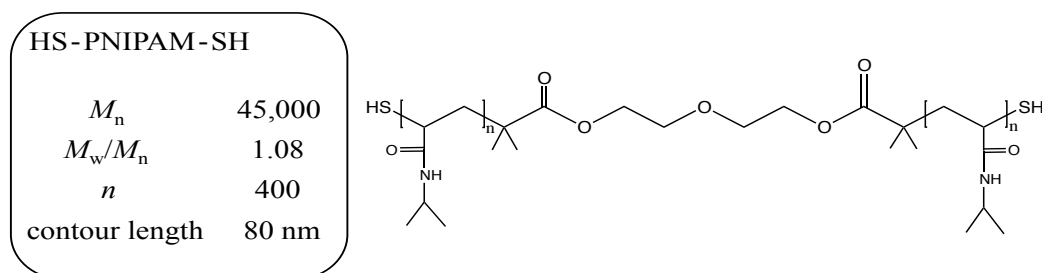


図 3-3 PNIPAM 試料の情報

b. 動静的ナノフィッシングに用いた試料 (HS-PS-SH)

動的ナノフィッシングでは、高分子一本鎖の粘弾性に注力するため、複雑な化学構造をもつ試料ではなく、より単純な両末端をチオール化したポリスチレン (polystyrene, HS-PS-SH) を用いた。HS-PS-SH は市販されていないので、市販の両末端カルボン酸の polystyrene :HOOC-PS-COOH (Polymer Source. Inc., USA) と 1,10-デカンジチオール (関東化学株式会社) を縮合することにより合成した (図 3-4)^[12]。HOOC-PS-COOH には、表 3-1 に示す三種類の試料を用いた。縮合剤にはポリリン酸エステル (polyphosphate ester: PPE) を用いた。この縮合剤を用いること

で、室温というマイルドな条件で縮合を進めることができる^[12]。マイルドな条件で反応させることは高分子の主鎖を壊さないために重要である。PPE はリン酸とジエチルエーテルから合成され、最終的には約 90 % のイソメタリン酸(II)と約 10 % のノーマルメタリン酸(III)の混合物になることが知られている^[13]。

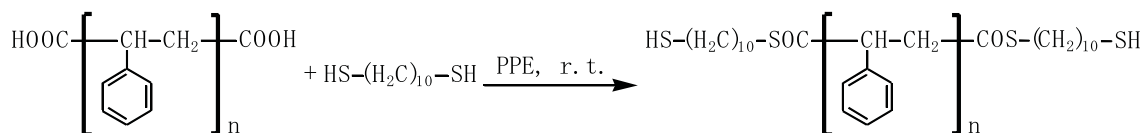


図 3-4 polystyrene 末端修飾

表 3-1 HS-PS-SH の平均分子量と分散

	M_n	M_w	M_w/M_n
PS6	61,000	66,000	1.07
PS9	85,000	91,000	1.07
PS12	122,000	131,000	1.07

c. 金(Au 111)基板の作製

金基板 (Au 111 面) の作製については、以下に手順を簡単に記述するに留める。

1. マイカを大気中で劈開、基板ホルダーにセットする
2. 真空度 $2.0 \times 10^{-4} \text{Pa}$ 以下まで排気を行う
3. 基板を 400°C 以上まで加熱し、ベーキングを行う
4. 抵抗加熱電源を ON にして、70A 通電加熱を行う
5. 基板加熱開始から、4 時間 30 分後に蒸着を行う
6. 蒸着スピードが $0.8 \text{\AA}/\text{sec}$ で、 430\AA 膜厚の金を蒸着する
7. 基板温度が室温付近まで下がったら取り出す

図 3-5 は作製した金基板を示す。大きい視野で観察すると溝形の欠陥が観察されるが、同時に数百 nm のテラスが多数存在していることも分かる。ナノフィッシングの実験では、そのテラス上に吸着した一本鎖に注目する。

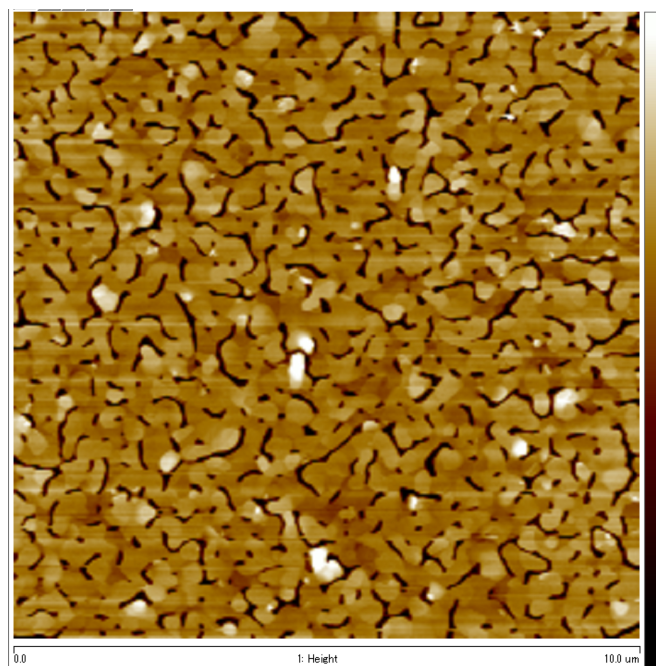


図 3-5 AFM による金(Au 111)基板の height 画像(走査範囲 10×10μm)

d. 金(Au 111)基板のクリーニング

ナノフィッシング測定ではカンチレバーを金基板から引き離すときに、非特異的吸着力が観察されることがあった。分子鎖の中低伸長領域で解析を行うため、有機不純物による非特異的吸着力を除去することが必要であった。そこで、金基板を紫外線(UV)/オゾンクリーナー (UV253、Filgen、Japan) を用いて、3 時間清浄化した。紫外線(UV)/オゾンクリーニング前後のフォースカーブを図 3-6 に示す。以下に紫外線(UV)/オゾンクリーニング手順を簡単に記述する。

1. 金基板を UV オゾンクリーナーにセットする
2. 酸素を 1min 注入する
3. 紫外線ランプを 3 時間程度金基板に照射する
4. オゾンキラーでオゾンの処理を行い、窒素ガスをパージしながら 15min 排気する
5. 金基板を取り出す

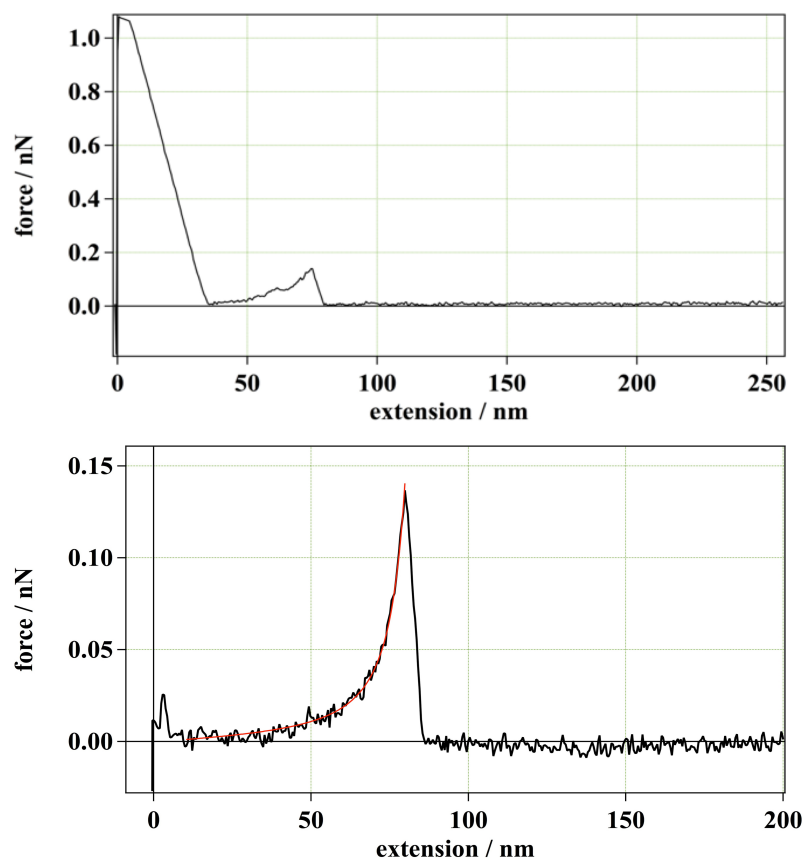


図 3-6 紫外線(UV)/オゾンクリーニング前（上）と紫外線(UV)/オゾンクリーニング後（下）

3.2.2 ナノ力学物性の試料

今回ナノ力学物性測定に用いた試料はスチレン-エチレンブチレン-スチレン共重合ブロックコポリマー(SEBS)である。SEBS 構造式を図 3-7 に示す。用いた試料は旭化成ケミカルズからご提供頂いた SEBS、成分重量比が 21/58/21 で $M_n = 75,000$ である。SEBS のハードセグメントとソフトセグメントからなる三元ブロックコポリマーははっきりとしたマイクロ相分離構造を有するために、AFM のナノ力学物性研究にとって大変良いモデル試料であると言える。

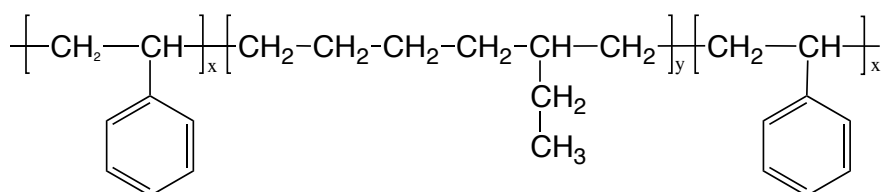


図 3-7 SEBS の化学構造

3.2.3 測定用試料の調製

a. ナノフィッシングの試料調製

本研究では、単一分子鎖を伸長するため、分子鎖は基板の上に広い間隔をもって分散させることが必要である。そのためには十分に希薄な溶液を調製すればよい。試料は良溶媒(PNIPAM が水、PS がトルエン) に 0.5 mM の濃度で溶解させた。この溶液 10 μ l を金基板の上に滴下、10 min 放置して分子を基板に吸着させた。これを純溶媒でリンスし、大気中で乾燥させたものを測定に使用した。

測定しているのが本当に単一分子鎖であるかどうかを確認するためにフォースボリュームモード (FV モード) の下にナノフィッシングを行った。フォースボリュームモードは試料表面各点でフォースカーブ測定を行い、二次元的にそれらをマッピングする手法である。図 3-8 に水中 24°C における PNIPAM 分子鎖のフォースボリュームの結果を示す。図の中で黒い点がナノフィッシング成功時のものであり、320nm \times 320nm 範囲で 5 本の分子鎖が観察された。この測定は 32 点 \times 32 点のフォースカーブ収録であり、測定点間距離は 10 nm 程度ある。観測された分子鎖間の距はほとんど 100 nm 以上であり、分子鎖の見積もり鎖長 80 nm より長いことが見られる。この結果から、高分子鎖は重なり合わない程度に十分広い間隔をもって基板の上に分散しているといえる。ただし図の右上における、三つのナノフィッシングデータは同じ伸びきり鎖長を示していたので、同じ一本鎖からのデータと推定できる。そのような場合もまれには存在することを付記しておく。

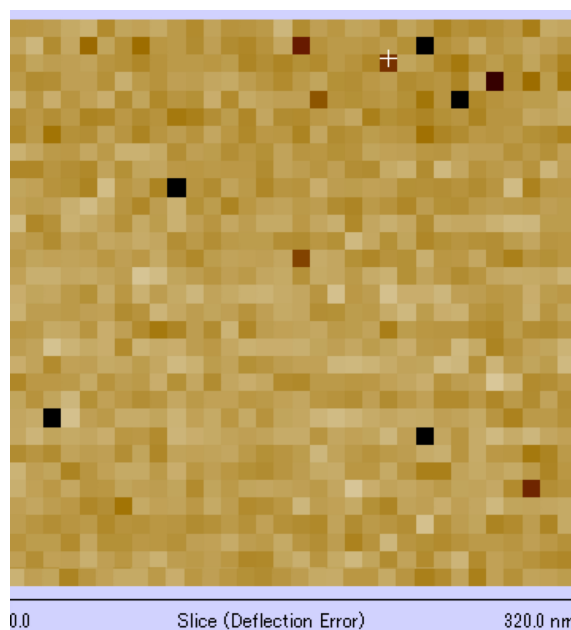


図 3-8 水中で 24°C における PNIPAM 分子鎖を試料として、フォースボリュームモードの下でナノフィッシングの結果

b. ナノ触診の試料調製

試料 SEBS を良溶媒であるトルエンに溶解し、清浄なガラス基板上に 3000 rpm で 1 分間スピ
ンコートすることでおおよそ 10 μ m の膜厚のフィルム試料を用意した。試料はスピコートした
後、ドラフトチャンバー内で 1 日自然乾燥、引き続き 3 日間室温で真空乾燥させ、残留溶媒を
除去した。

3.3 測定

3.3.1 フォースカーブ

フォースカーブ測定はカンチレバーおよび探針を試料表面に対して垂直に走査し、相対位置の変位とカンチレバーの反りをプロットしたものである。本研究では、AFM におけるフォース-ディスタンスカーブ（あるいは簡単にフォースカーブ）測定をベースとして、ナノメートルスケールの力学物性解析（ナノ触診技術）を行う。さらにそのより高度な応用として単一高分子鎖の伸長実験（ナノフィッシング）を行う。図 3-9 に、硬い基板における大気中でのフォースカーブの測定過程を表す。上の模式図の(1)でスキャナーが上がり、カンチレバーが段々試料表面にアプローチしていき、(2)では表面に接触し、(3)までカンチレバーが反る。反り量が一定の値になった後でスキャナーが下がり、(4)で最大凝着力が観測され、その後急に試料表面から引き離され、(5)のように再び力が 0 になる。図 3-9 の左下のフォース-ディスタンスカーブでは、横軸と縦軸それぞれはスキャナーの移動距離とカンチレバーの反り量を示す。試料がカンチレバーから離れる方向が移動距離の正の方向である。カンチレバーの反り量から試料にかかる力が分かり、試料が変形する場合には図中の式からその変形量が計算できるので、最終的に力-試料変形量カーブが得られる。力の方向は、接触した後カンチレバーの受けた斥力が正、引力が負である。このカーブはナノ触診技術およびナノフィッシングにおけるリファレンスとして利用される。

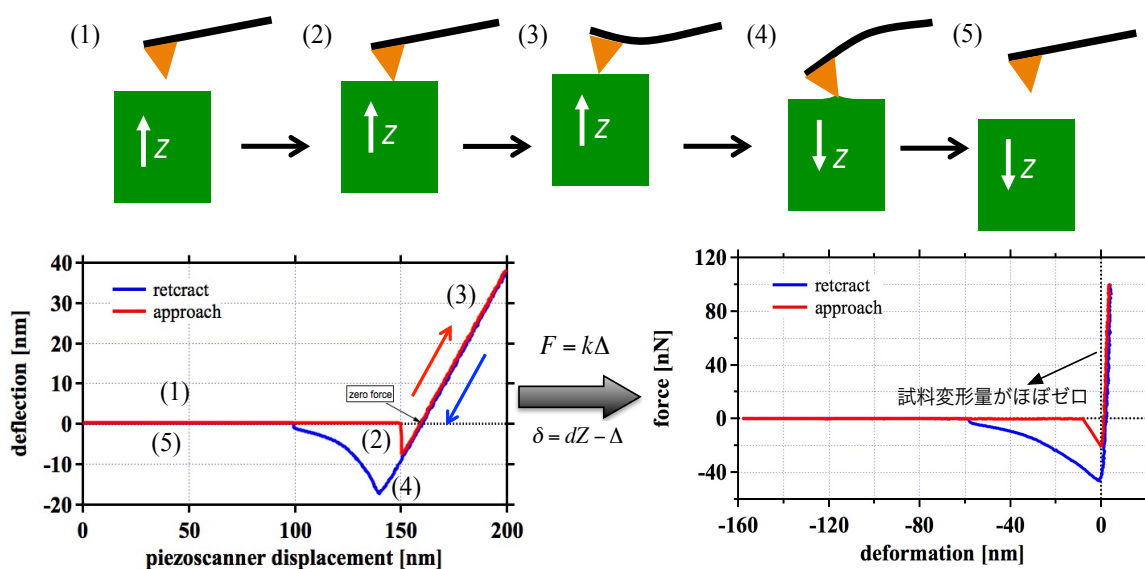


図 3-9 フォースカーブの模式図

3.3.2 ナノ触診 AFM

図3-9の右下に示したのは硬い試料に対する典型的なカーブの形状であり、変形量がほぼゼロであることが分かる。一方、軟らかい試料の場合には、探針との接触により試料表面に力がかかったとき、試料にはその硬さに応じた変形が生じるため、図3-9右のようにならず、図3-10のような力-変形量カーブが得られる。これまでの研究で^[14]この力-変形量曲線に着目して、弾性体の接触力学 JKR モデルを適用することで、接触範囲の力学物性を評価できることが分かっている。医師が指で体表を触診するように AFM の探針が試料表面の弾性率などのさまざまな物理量を調べる手法がナノ触診技術である。

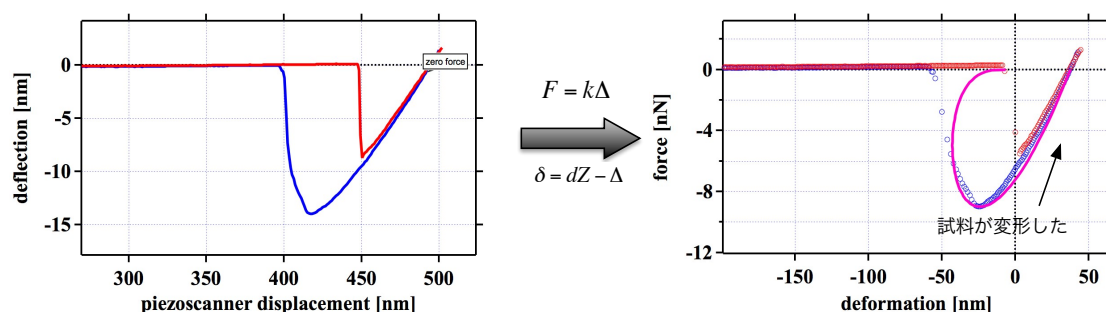


図3-10 軟らかい試料の応力-試料変形量 (F-δ) 曲線

このナノ触診技術とAFMの標準的なフォースボリュームモードを結合することで力学物性のマッピングを行うことができる。すなわち試料表面各点でフォースカーブ測定を行うフォースボリュームモード (FVモード) と上述の接触力学による解析を結合することにより、変形量や弾性率などの情報を算出し、二次元的にそれらをマッピングする手法となるのである。

ナノ触診AFMの測定は室温で行い、異なる試料に対して、走査速度と押し込み量の最適条件を設定する。押し込み量はNanoscope Vソフトに組み込まれたトリガーモード(trigger mode)で、最大に探針を押し込んだ点でのカンチレバー反り量の閾値(trigger threshold)で制御した。設定した値は図3-10左に示している。走査速度およそ5 Hzの条件ですべての実験を行った。

3.3.3 ナノフィッシング

基板に対して垂直に走査するフォースカーブモードを用いて、両末端を修飾した単一高分子鎖を、基板との特異的相互作用でその一端を基板に吸着させ、もう一つの端を AFM の探針先端で「釣り上げ」、単純に伸長するというのを、準静的ナノフィッシング^[15]と呼ぶ。高分子鎖が釣れた場合の概念図を図3-11左に示す。

単一分子鎖の物性を議論するには、分子鎖の伸びと力の関係を調べればよい。しかし、図3-10に示すようにフォースカーブの測定 (引き離し過程) において、試料位置の変位と分子鎖の

変形量は一致しない。実際の伸びの大きさ δ は、試料位置の変位 z からカンチレバーの反り量 Δ を差し引いた量であり、 $\delta = |z| - |\Delta|$ となる。また、そのときの張力 f はカンチレバーのバネ定数を k とすると $f = k\Delta$ となる。測定したフォースカーブに対してこのような換算を行うことで、一本鎖の張力-伸長曲線が得られる（図 3-1 1 右）。

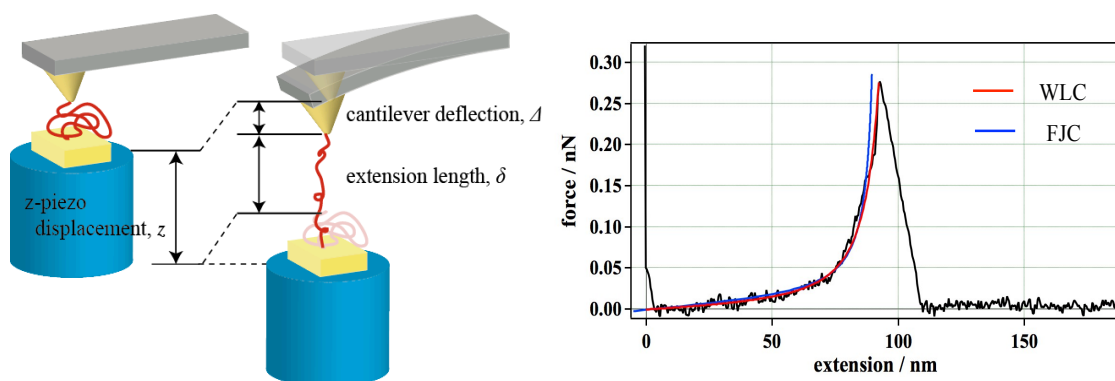


図 3-1 1 ナノフィッシング原理図（左）と一本鎖の伸長-張力曲線（右）

張力-伸長曲線に対して理論モデルをフィッティングすることで、一本鎖のセグメント長（弾性パラメータ）と分子鎖長が得られる。2.3 節に述べたみみず鎖（worm-like chain, WLC）モデル式(2.4)と自由連結鎖（freely jointed chain, FJC）モデル式(2.5)を比較すると、WLC モデルが全領域で最もよくカーブをフィッティングできることが分かった。

また、FJC モデルによるフィッティングが合わないことは、各セグメントは引き伸ばすことができないという仮定を用いていることが原因であると考えている。そこで、本研究では WLC モデルを用いて以後の解析を続けた。

試料の移動速度は 400 nm/s とした。この速度は多数のデータを得るために定めた速度である。この速度が高分子の静的な物性を得るために妥当なものかどうかを判断することは難しいが、予備実験において速度を 200 nm/s や 2000 nm/s に変化させても得られたデータに変化は見られなかったため、実験しやすい速度に設定した。

PNIPAM の準静的ナノフィッシングの測定には、純水、純メタノール及びさまざまな濃度の水-メタノール混合溶媒中で行っている。純水中の測定は、温度依存性を調べるために 24, 28, 38, 48°C で実験を行った。混合溶媒の実験は室温で行った。

3.3.4 動的ナノフィッシング

動的ナノフィッシングは、準静的ナノフィッシングの過程でカンチレバーに振動的な摂動を加える実験である。動的ナノフィッシングにはカンチレバーの熱揺らぎを用いるノイズ解析法^[16]と強制振動法^[12, 17]の二種類がある。強制振動法はカンチレバーの揺らぎに頼るわけではなく十

分な振幅の強制振動を加えるので、より良い S/N を取れる利点をもつので、本研究では強制振動法を採用した。これまでの研究^[12]では、市販 AFM 装置に搭載されているカンチレバーマウント上の圧電素子を用いて、共振周波数で (液中では 8-10 kHz) カンチレバーを機械的に加振することで実現した。それによって分子鎖の伸長過程のカンチレバーの振動の振幅と位相の変化を測定することで、1 本の分子鎖の粘弾性を伸長過程全体にわたって連続的に評価することができた。しかし、動的ナノフィッシングの微小な力と振動に対して、市販 AFM に付属のロックインアンプでは操作できるパラメータが限られるので、**図 3-1 2 左**に示すようにノイズがよく除去できない。そこで、ノイズを有効に除去するため、外部ロックインアンプ装置を導入した。**図 3-1 3**に AFM 装置と外部ロックインアンプを組み合わせた装置の模式図を示す。試料の上下方向の移動とカンチレバーたわみの検出は AFM 装置で行った。カンチレバーの加振と振幅、位相差の検出は外部ロックインアンプで行った。**図 3-1 3**のように、外部ロックインアンプの内蔵発信器からの信号をカンチレバーへの強制振動信号入力とし、出力のレーザー信号を外部ロックインアンプに戻す。ロックイン検波後の外部ロックインアンプから出力される参照信号として、振幅と位相のそれぞれの信号が得られる。信号収録時間や振動の周波数や強度を自由に設定できるなどの利点がこの方式にはある。

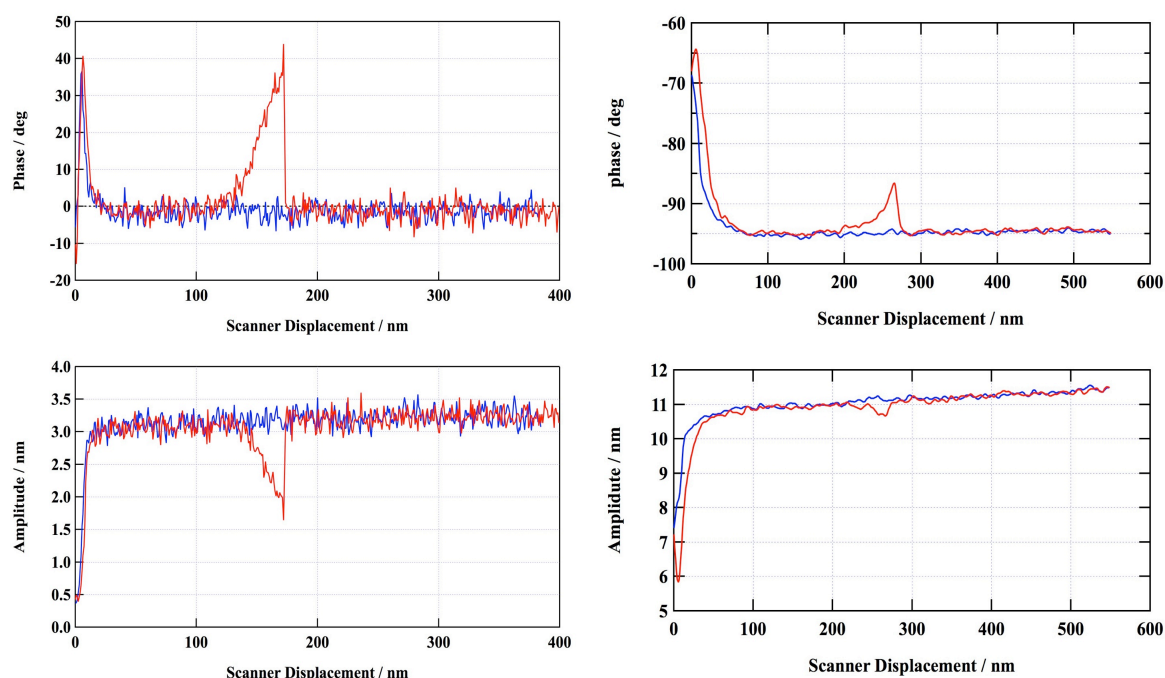


図 3-1 2 市販 AFM 装置に搭載されているタッピングモードによる振幅と位相差カーブ (左) と外部ロックインアンプによる振幅と位相差カーブ (右)

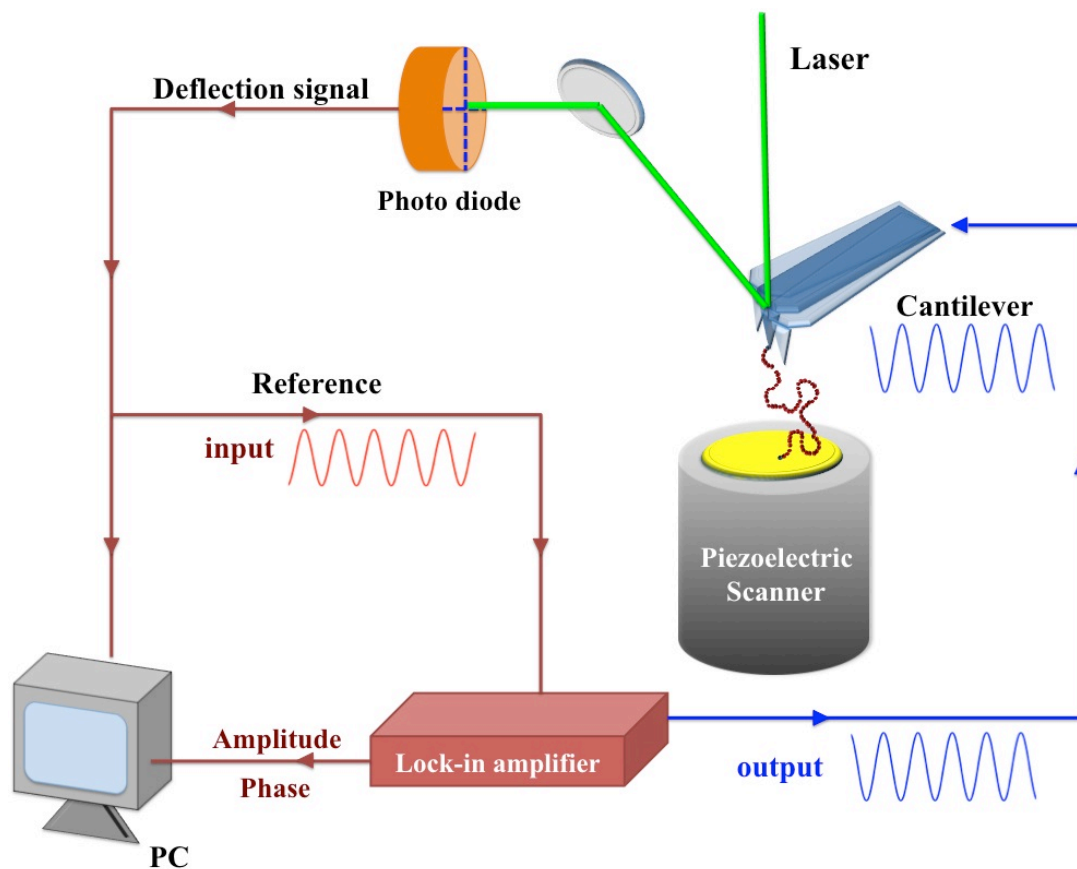


図 3-1 3 動的ナノフィッティングの模式図。

外部ロックインアンプによる振動信号は、カンチレバーに印加される

実験では、ロックインアンプの時定数はカンチレバー振動周期の数倍必要であることを考慮し、時定数は 3 ms とし、最大の S/N 信号が得られた。図 3-1 2 右に外部ロックインアンプにより得られたデータを示す。導入前後の比較から、動的ナノフィッシングのノイズレベルを最小限に抑えることが確認された。

実験のはじめに、探針と基板が十分離れた状態でカンチレバーの溶媒中での共振曲線を測定し、共振曲線中で振幅が最大となる周波数(共振点)と振動の Q 値を求めた。共振点を加振周波数とし、自由振動の状態で振幅が 5~10 nm RMS 程度となるようにカンチレバーを振動させた。振動の解析は定常状態を仮定して行うため、試料の移動速度は十分に遅くしなければならない。本測定ではカンチレバーを 8-10 kHz (先端の最大速度 100 $\mu\text{m/s}$) で振動させているが、これに対して十分に遅いと思わせる移動速度 400 nm/s を設定した。溶媒には良溶媒としてトルエン、貧溶媒としてメタノール、中間程度の溶解性を示すジメチルホルムアミド (DMF) を用いた。

参考文献

- [1] O. Kratky; G. Porod, *Rec. Trav. Chim.*, **68**, 1106 (1949).
- [2] J. P. Cleveland; S. Manne; D. Bocek; P. K. Hansma, *Rev. Sci. Instrum.*, **64**, 403 (1993).
- [3] J. L. Hutter; J. Bechhoefer, *Rev. Sci. Instrum.*, **64**, 1868 (1993).
- [4] J. E. Sader; I. Larson; P. Mulvaney; L. R. White, *Rev. Sci. Instrum.*, **66**, 3789 (1995).
- [5] T. J. Senden; W. Ducker, *Langmuir*, **10**, 1003 (1994).
- [6] H. J. Butt; P. Siedle; K. Seifert; K. Fendler; T. Seeger; E. Bamberg; A. L. Weisenhorn, K. Goldie; A. Engel, *J. Microsc.*, **169**, 75 (1992).
- [7] Y. Q. Li; N. J. Tao; J. Pan; A. A. Garcia; S. M. Lindsay, *Langmuir*, **9**, 637 (1993).
- [8] F. Oesterhelt, M. Rief and H. E. Gaub, *New J. Phys.*, **1**, 6. (1999).
- [9] K. Mitsui, K. Nakajima, H. Arakawa, M. Hara and A. Ikai, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **272**, 55 (2000).
- [10] T. Wang, K. Nakajima, A. Miyawaki and M. Hara, *Ultramicroscopy*, **105**, 90, (2005).
- [11] X. Zhu; C. Yan; F. M. Winnik; D. Leckband, *Langmuir*, **23**, 162 (2007).
- [12] H. Watabe, K. Nakajima, Y. Sakai, T. Nishi, *Macromolecules*, **39**, 5921 (2006).
- [13] M. Wittkop, S. Kreitmeier, D. Görtitz, *Phys. Rev. E*, **53**, 838 (1996).
- [14] Y. Nakamura, T. Norisue, A. Teramoto, *Macromolecules*, **24**, 4904, (1991).
- [15] K. Nakajima; H. Watabe; T. Nishi, *Polymer*, **47**, 2505 (2006).
- [16] M. Kawakami, K. Byrne, B. S. Khatri, T. C. B. Mcleish, S. E. Radford and D. A. Smith, *Langmuir*, **21**, 4765 (2005).
- [17] H. Janovjak, D. J. Müller, and A. D. L. Humphris, *Biophysical Journal*, **88**, 1423 (2005).

第4章 準静的ナノフィッシングによる PNIPAM と溶媒との相互作用解明

水溶性で温度感応性をもつ高分子であるポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM) は、その相分離温度が生理条件に近いことから、医学や薬学の分野で広く利用されている^[1,2,3]。PNIPAMは疎水性のイソプロピル基と親水性のアミド基を両方もつことから、疎水基と親水基との競争が溶解性に関連する^[4-7]。すなわち、低い温度で親水性のアミド基と水分子が水素結合を形成し、水に溶解できる。一方、高い温度では水素結合の構造が不安定化し、PNIPAM鎖がグロビュールの脱水和状態になる^[8-10]。また、PNIPAMは良溶媒である水とメタノールを混合すると、 $0.1 < \Phi_M < 0.65$ で^[11-13] (Φ_M は溶媒混合物中のメタノール体積分率) 鎖の収縮や相分離誘起などの貧溶媒性を示し、共貧溶媒性と呼ばれる。その水和・相分離現象や双方が良溶媒である水とメタノールを混合すると貧溶媒化するという共貧溶媒性についてのメカニズムに関しては、さまざまな理論モデルが提出されており(第2章で述べたパールネックレスモデル^[14]や混合溶媒の複合体理論^[15]などがある)、未だに決着がついていない状態である。そこで、本研究ではPNIPAMの感熱性と共貧溶媒性による一本鎖のコンフォメーション転移などの物性応答を調べることを通じ、PNIPAMの理論モデルを検証する。

最近、Zhangら^[16]は物理吸着によって、8 M尿素水溶液でPNIPAMとポリアクリルアミド (PAAM)の一本鎖伸長-張力カーブを得た。Vancsoら^[17]はPNIPAM一本鎖の高伸長領域で温度依存性がないという結論を報告した。Cuiら^[18]はPNIPAM分子鎖の中伸長領域における弾性の温度依存性を観察した。これらの研究では、以下の問題に制限され完全的な一本鎖の伸長-張力曲線を取得できていない。(1) 物理吸着系を利用しているため分子鎖末端のみが吸着しているわけではなく、分子鎖の鎖長が正確に得られない；(2) PNIPAM分子の多分散性によって物性の統計解析に問題がある；(3) 低伸長領域では探針と基板間の非特異的吸着が存在する。これらの問題に対して、本研究ではWinnik研で合成された単分散の両末端チオール修飾PNIPAM^[19]を用いて、金-チオール基間の化学吸着によって準静的ナノフィッシングを行った。

4.1 PNIPAM 一本鎖の伸長

図 4-1 はナノフィッシングによる典型的な一本鎖伸長のフォースディスタンスカーブである。青い線で押し込み過程、赤い線で引き離し過程を示している。引き離し過程では分子を伸長すると徐々に張力が大きくなるのにつれて、カンチレバーのたわみが大きくなっていき、伸び切る付近で急激にたわみが大きくなり最後には破断している様子が分かる。また、あまり伸長されていない領域ではほとんど力が観測されないことにも注意しておく必要がある。静的なナノフィッシングではランダムコイルになっている領域での情報はほとんど得られない。3.2.2 節に述べた分子鎖の伸びと力の関係により、図 4-2 (a)の張力-伸長曲線に変換する。

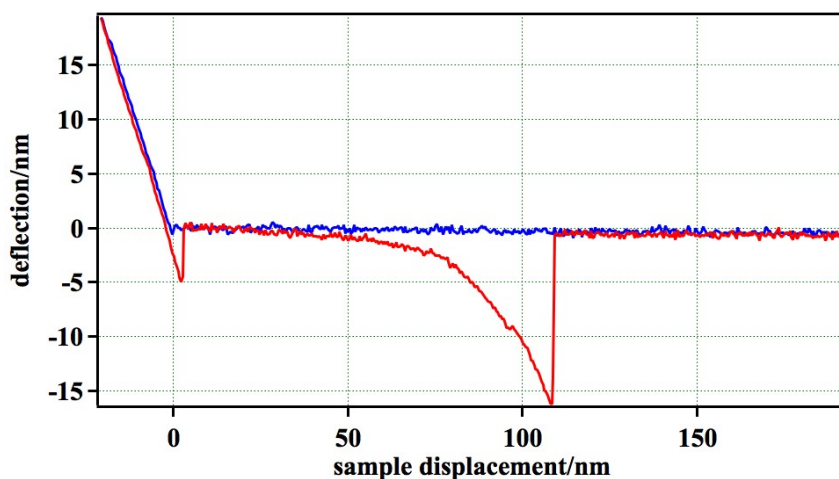


図 4-1 一本鎖伸長のフォースディスタンスカーブ

4.1.1 典型的なフォースカーブ

純水中において、下限臨界共溶温度（LCST）付近でPNIPAMのナノフィッシングを行い、図 4-2 の二種類の典型的なフォースカーブが観察された。図 4-2 (a)で、伸長初期の一定の傾きと高伸長領域での伸び切り鎖効果を表しているカーブは、伸長初期でHookeの法則が成り立つため、弾性伸長カーブと呼ぶ。緑破線の初期傾きは 3.56×10^{-4} N/mである。理論値は理想鎖で 1.70×10^{-4} N/m,実在鎖で 0.64×10^{-4} N/mであるから、オーダー的に合っており、妥当な値であるといえる。そこで弾性伸長カーブでは、低伸長側でのエントロピー弾性に由来する理想鎖的な張力の線形的増加が観測されていると考えられる。

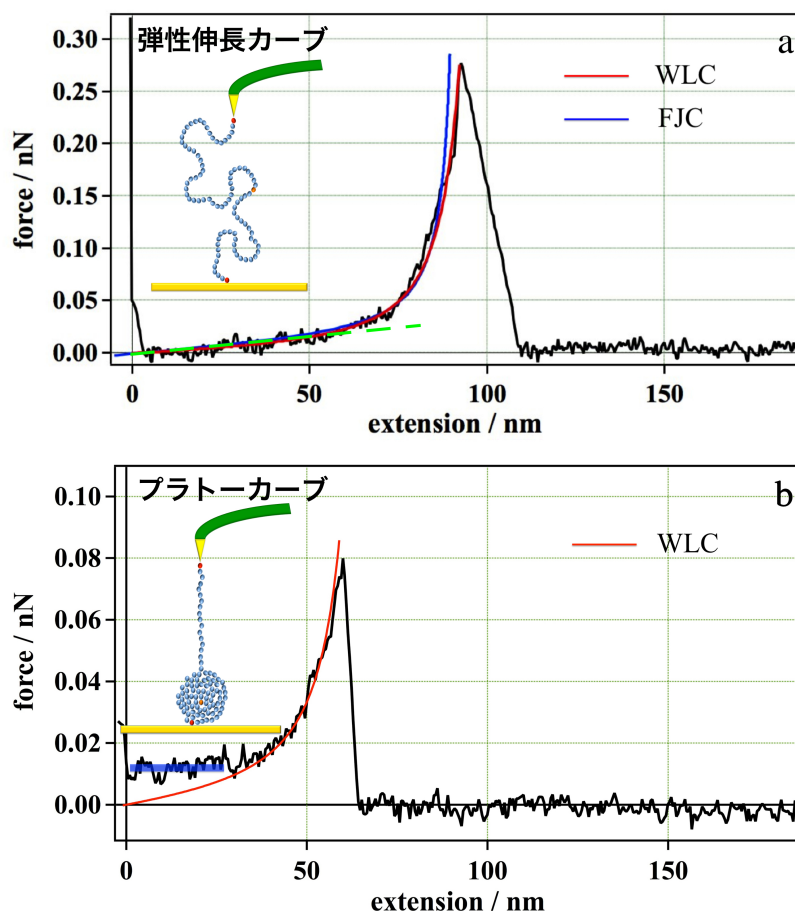


図 4-2 弾性伸長 (a) とプラトー (b) の二種類の典型的なフォースカーブ

一方、すべての張力-伸長曲線がこのような形状をしているわけではなく、図 4-2 (b) に示すように低伸長側で伸長距離にかかわらず力が一定であるプラトーカーブが観察されることもあった。このプラトーカの値 (青い線) が約 14 pN である。実は、プラトーで働く力は貧溶媒中で縮んだグロビュールからランダムコイル状に引き抜く時の分子鎖と溶媒の斥力だと考えられる。Haupt^[20]らは物理吸着系の実験で、一本ごとに約 15 pN の張力がかかっており、伸長によって変化せず一定値を保っていることを観測した。この一定の力は本研究の実験結果とほぼ等しくなっている。しかし、この実験では分子鎖の基板表面吸着量も決して少なくはなかったため、図 4-3 のように基本的に複数の分子鎖が同時に伸長されており、完全な一本鎖のグロビュール-コイル転移を観察することができていない。本研究で用いた化学吸着は物理吸着よりも強力なため、伸び切り鎖効果まで観測できている。従って PNIPAM の理論モデルを検証するために、信頼性の十分高いデータを提供できるのである。実際 PNIPAM メカニズムについては、シミュレーションによる理論的な研究が先行し、コイル-グロビュール転移を伴うことを予見している。図 4-4 は田中らのパールネックレスモデルによるシミュレーション結果である。図中では、横

軸が一本鎖の末端距離 R 、縦軸が張力のパラメータ t であり、ピンクの実線がコイル-グロビュール転移の予測であり、ナノフィッシングによるプラトーカーブと一致することが分かる。プラトートの力についての議論は後述する。

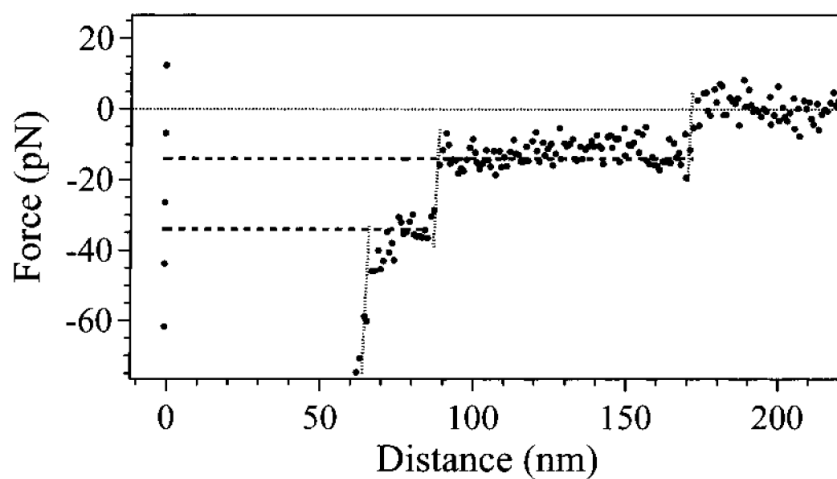


図 4-3 コイル-グロビュール転移の例

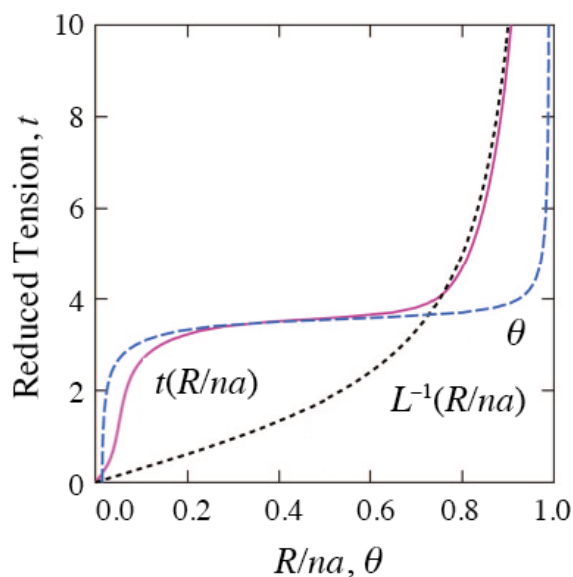


図 4-4 パールネックレスモデルによるシミュレーション結果

4.1.2 プラトーカーブの解析

プラトーカーブは低伸長で非エントロピー弾性伸長が現れるため、高分子の伸長理論の WLC モデルも FJC モデルも成り立たない。図 4-4 の田中らのパールネックレスモデルによるシミュ

レーションでは、グロビュールがすべてランダムコイルに引き伸ばされた高伸長領域後では、弾性伸長（黒い破線）とプラトー伸長（ピンクの実線）が同様の伸長になると予測している。そこで、プラトーカーブに対しては、原点を固定し、高伸長領域だけをフィッティングを試みた。図4-5に、水中 28°C での弾性伸長カーブ、プラトーカーブの持続長の頻度分布を示す。それぞれ、47, 25 個のデータを含んでいる。弾性伸長カーブの持続長平均値が $0.46 \pm 0.11\text{nm}$ 、プラトーカーブの持続長平均値が $0.45 \pm 0.09\text{ nm}$ であり、両方がほぼ等しく、理論の予測と一致することが分かる。従って、この方法を用いてプラトーカーブを解析することが妥当だと思われる。

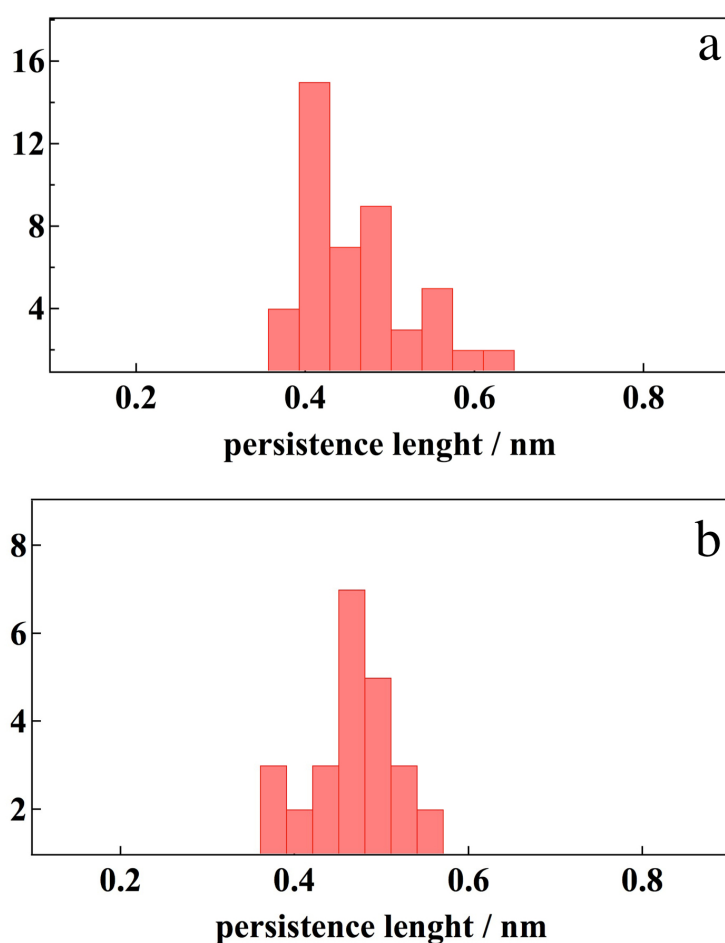


図4-5 28°C 水中での弾性伸長カーブ(a)とプラトーカーブ(b)の持続長

4.2 PNIPAM の感熱性

本節では、純水中で水温を 24°C、28°C、38°C、48°C と変化させ、PNIPAM 鎖のナノフィッシングを行い、一本鎖の振る舞いの温度依存性を検証した結果を報告する。

4.2.1 二種類のフォースカーブ出現確率の温度依存性

プラトーカーブの出現は偶然的ではなく、確率的な現象である。表 4-1 (n がデータ数である) に異なる温度での二種類のカーブの出現確率を示した。LCST 以下の 24°C では弾性伸長カーブが 86%で、LCST 以上の 48°C でプラトーカーブが 86%になることが見られる。バルクの実験では、LCST 以下で水が貧溶媒性、LCST 以上で貧溶媒性を表す。従って、溶媒の質の違いは高分子鎖のコンフォメーションに影響を与えるものであるから、各種フォースカーブの出現確率にその影響が現れることが期待される。すなわち、良溶媒では高確率的にランダムコイルになるため、弾性伸長カーブが多く観察される一方、貧溶媒ではプラトーカーブが高確率となる。興味深いところは良溶媒状態でもプラトーカーブも観察されたことがあり、これはバルクの実験では決して捉えられない現象である。このような一本鎖レベルでの現象を捉えることができるという点は、他の測定法には真似できないナノフィッシングならではの大きな利点である。良溶媒でプラトーカーブが出現する原因は現段階でも不明であり、今後の議論の必要がある。LCST の分子量依存性と関係あるのではないかと推測している。

表 4-1 各種フォースカーブの出現確率の温度依存性

温度	弾性伸長	プラトー
24°C (n=47)	86 %	14%
28°C (n=72)	75%	25%
38°C (n=85)	32%	68%
48°C (n=50)	10%	86%

4.2.2 分子鎖持続長の温度依存性

WLC モデルのフィッティングで得られる持続長の LCST 温度付近での温度依存性について考察する。図 4-6 は持続長の温度依存性を示している。各温度の値は弾性伸長カーブとプラトーカーブの持続長をともに含んで統計している。エラーバーは標準誤差 σ/\sqrt{n} である。ここで σ は標準偏差、 n は各温度のデータ数である。

図に示したように持続長は LCST 付近で温度依存性があり、LCST の近くの 28℃で持続長が最小となった。これは高分子鎖の排除体積相互作用とモノマーと溶媒の相互作用が、ほぼお互いに打ち消し合って、分子鎖が準理想鎖状態なるからだと考えられる。温度が低くなると、排除体積効果^[21]により、持続長が長くなっている。一方、温度が高くなると、水が貧溶媒化し高分子鎖が剛性的になるため、持続長も大きくなっているのではないかと考えている。

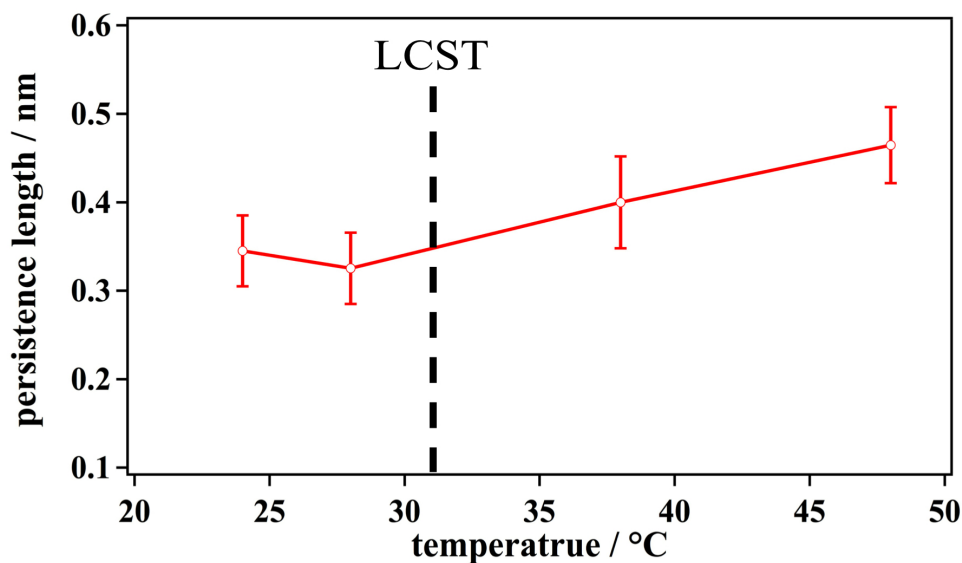


図 4-6 持続長の温度依存性

4.2.3 プラトーカの温度依存性

図 4-7 (a)は温度変化に伴う、低伸長領域におけるプラトー力の変化を示している。全温度領域で、プラトー力 $F_{\text{plateau}} = 14\sim 26$ pN で、他の研究者の実験結果とほぼ一致することが分かる。さらに温度の上昇に伴い、プラトーの力 F も上がることが観察された。温度が高くなると、PNIPAM 分子鎖が水中でより緊密にグロビュールに凝縮されるため、プラトー力 F が大きくなる。すなわち PNIPAM 鎖の脱水和効果が強くなるのがプラトー力 F の増大の原因だと考える。

2.3.1 節で紹介した田中らのパールネックレスモデルの理論的シミュレーションでは、平均末端間距離 R/na を無次元化した張力 t の関数として、プラトーカーブが予測されていた。

$$t = \frac{Fa}{k_B T} \quad (4.1)$$

ここで、 a がモノマーのサイズ、 F が張力、 T が温度である。田中らはグロビュール-コイル転移に際し、ある臨界張力 t_c で末端間距離が急激に増加する「引き抜き領域」が出現することを示した。この t_c が F_{plateau} に相当するものであり、

$$t_c \cong \sqrt{\frac{6N\gamma(\tau - \tau_c)}{N^{6/5} - N^{2/3}}} \sim \Delta\tau^{0.5} \quad (4.2)$$

ここで、換算温度 $\tau \equiv 1 - \Theta_0 / T$ ($\tau_c \equiv 1 - \Theta / T_c$, $T_c = 31.5^\circ\text{C} = 304.5\text{K}$, $\Theta = 555\text{K}$)、臨界張力はコイルーグロービュール転移温度からの温度差 $\Delta\tau \equiv \tau - \tau_c$ に依存し $t_c \sim |\Delta\tau|^{1/2}$ のような変化をする。図 4-7 (b) は図 4-7 (a) を元に式(4.2)を利用してスケーリングしたグラフである。フィッティングにより

$$F_{\text{plateau}} \sim \Delta\tau^{0.51 \pm 0.03} \quad (4.3)$$

が得られた。フィッティング結果は協同水和理論モデルによる $F_{\text{plateau}} \sim \Delta\tau^{0.5}$ の予測とよく一致した。この実験は初めてパールネックレスモデルの協同水和理論の仮説を一本鎖のレベルで実証したものだと考えている。

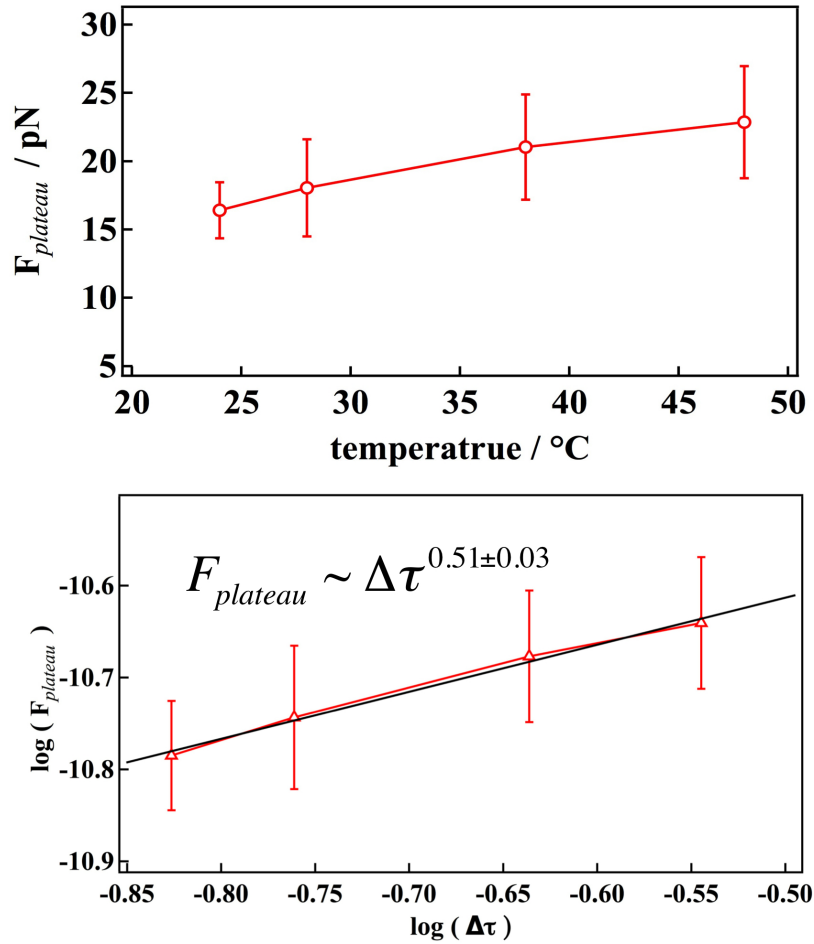


図 4-7 プラトーカの温度依存性

4.3 PNIPAM の共貧溶媒性

前述のように PNIPAM の共貧溶媒性の原因に関しては長く続く争論があるが、我々は水-メタノール混合溶媒中でナノフィッシングを行うことによって、異なる比率の混合溶液中で PNIPAM 一本鎖の統計力学的な振る舞いを議論する。

4.3.1 二種類フォースカーブ出現確立の溶媒依存性

表 4-2 は、異なる体積比率の水・メタノール混合溶媒における各種フォースカーブの出現確率を示している。各比率の混合溶媒で 20 から 70 個のデータを取得したが、メタノール体積比率が 10%から 60%までの範囲でプラトーカーブが高確率になることが見られる。バルクの実験では、良溶媒である純水とメタノールを混合すると、メタノールの体積分率が 10%から 60%で貧溶媒性が現れているという結論が存在している^[1]。従って、混合溶媒中のナノフィッシングにおけるフォースカーブの出現確率は分子鎖の親疎溶媒性と関係があることが確認できる。

表 4-2 混合溶媒中での各種フォースカーブの出現確率

メタノール体積分率(%)	弾性伸長(%)	プラトー(%)
0 (n = 20)	75	25
10 (n = 17)	58	42
20 (n = 32)	39	61
30 (n = 36)	25	75
40 (n = 35)	33	67
50 (n = 28)	27	73
60 (n = 54)	48	52
70 (n = 36)	66	34
80 (n = 34)	94	6
90 (n = 40)	90	10
100 (n = 70)	92	8

4.3.2 分子鎖伸びきり鎖長の溶媒依存性

図 4-8 は伸び切り鎖長の溶媒依存性を示している。良溶媒領域では伸び切り鎖長が期待した鎖長（80 nm）に近いことが見られる一方、貧溶媒領域(10%~60%の体積比率)では、短い伸び切り鎖長を示した。伸び切り鎖長は完全には独立のパラメーターではなく、分子鎖長と直接的に関連すると考えられる。単分散試料とはいえ、実際にはある程度の分子鎖長の分布が存在する。

しかし、各混合溶媒比率でそれぞれ数十のデータを統計しているので分子鎖長の分布の影響は平均値には現れないと予想され、良溶媒でも貧溶媒でも伸び切り鎖長は一定値になるはずである。従って、図 4-8 の伸び切り鎖長の溶媒依存性は予期しなかった結果である。実は、伸び切り鎖長は分子鎖長のみならず、高分子鎖のコンフォメーションにも影響を受けるものである。貧溶媒領域では元々グロビュール状態にあり、分子内部の絡み合いが生じている。もし伸長過程ですべての絡み合いが解けずに破断に至っていると、伸び切り鎖長が貧溶媒領域で減少したことを説明できる。

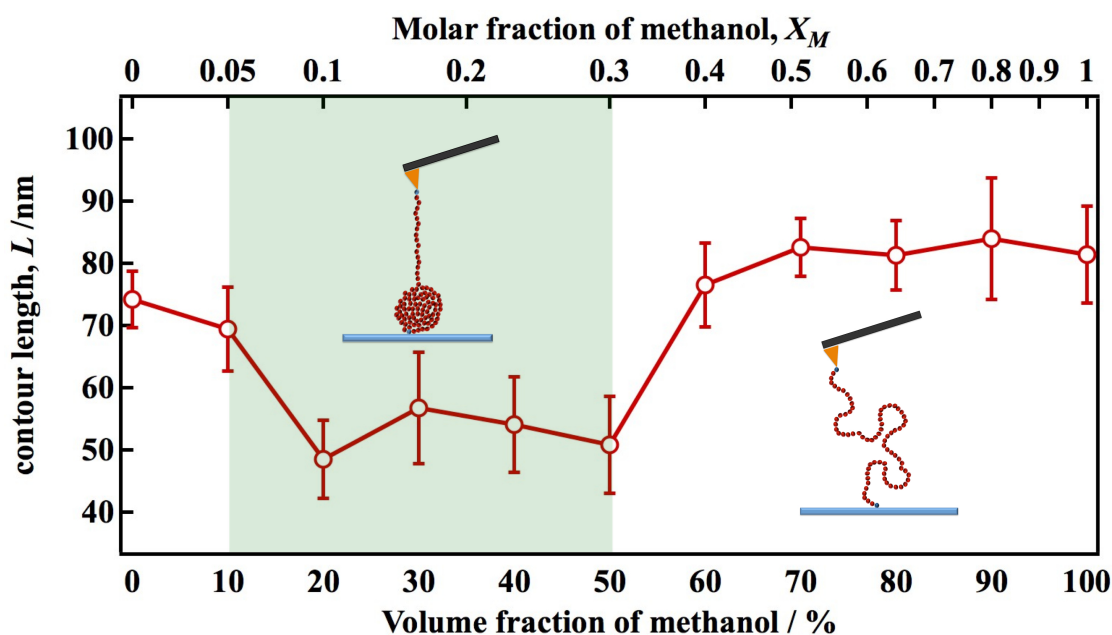


図 4-8 PNIPAM 分子鎖伸びきり鎖長の溶媒依存性

4.3.3 ナノフィッシング成功率の溶媒依存性

3.2.2 節に述べたように、単一分子鎖を伸長することを保証するため、分子鎖は基板上に十分に分散させることが必要である。フォースカーブ測定を複数回試みる間で、高分子鎖の十分な伸長($L_e/L > 0.8$)に成功した頻度は 1~4%であり、これをナノフィッシング成功率と定義する。図 4-9(a) は、ナノフィッシング成功率の溶媒依存性を示している。メタノール体積比率の 60% 以上では釣り上げの確率が 3~4%で、メタノール体積比率の 40%以下では確率が 1%ぐらいである。図 4-9(b) に示した PNIPAM の曇点の溶媒依存性と比較すると、成功率と曇点の変化がよく一致することが見られる。これは、成功率が分子鎖のコンフォメーションと密接に関連していることを示唆している。ランダムコイル状態に比べてグロビュール状態では高分子鎖が縮み、PNIPAM 分子鎖のフリー末端の活動範囲が減少することが、成功率が小さくなる原因だと考える。

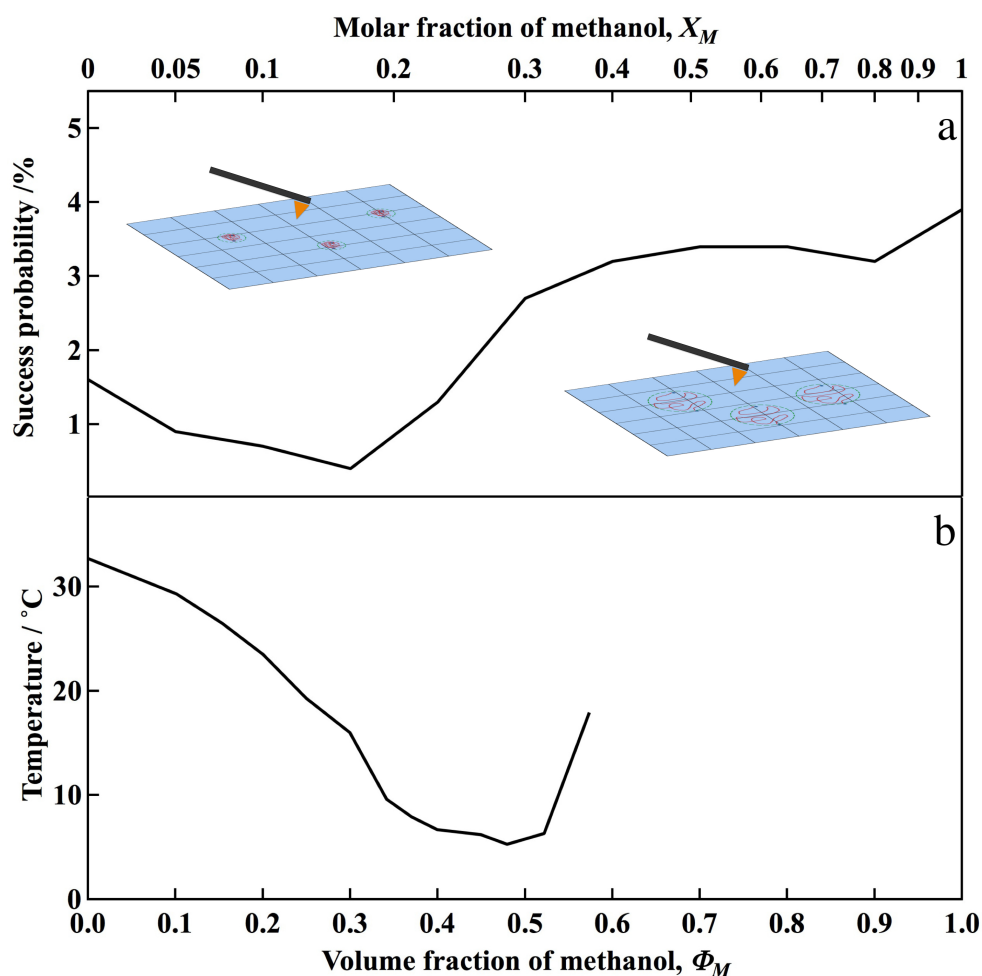


図4-9 水・メタノールの混合溶媒における、(a) ナノフィッシング成功率の溶媒依存性と (b) バルクの曇点の溶媒依存性

4.3.4 分子鎖持続長の溶媒依存性

図4-10は違う体積比率の混合溶媒における、WLCモデルのフィッティングによる持続長の統計を示した。まず、純水中（メタノール 0%）における持続長は純メタノール中（純水 0%）より小さくなることが観察された。水分子はメタノール分子よりも極性が強く、水素結合が生じやすいために、水中での分子鎖がより軟らかくなった結果として、持続長が短くなったのではないかと考える。水にメタノールを混合すると、水分子とメタノール分子の高分子鎖への水素結合が競合し、溶媒が貧溶媒化し、持続長がメタノール 10~60%でピークを示して、高分子鎖が剛性化した応答が見られる。この結果は純水中の温度依存性に関する前節の議論とよく一致する。

さらに、純水と純メタノールからそれぞれ逆方向に混合溶媒濃度を変化させる実験を行うと、

興味深い現象が観察された。図 4-10 では、青い線は純水からだんだんメタノールを入れる場合の分子鎖持続長変化で、逆に赤い線が純メタノールからの持続長変化である。両方向に混合溶媒濃度を変化させるデータで、持続長のピークがずれることを発見した。この現象はこれまでの研究で観察されたことがないもので、混合溶媒中で水分子とメタノール分子の高分子鎖への競争的吸着が生じているという競合的水素結合理論を傍証できる証拠となり得ると考える。

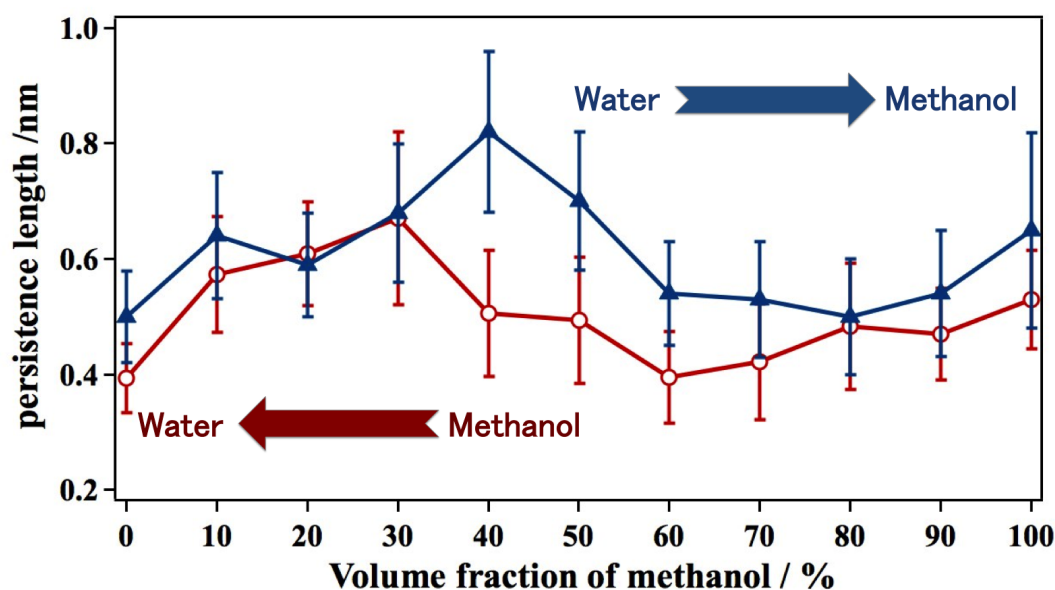


図 4-10 混合溶媒中での PNIPAM の持続長。異なる方向に混合溶媒濃度を変化させて、持続長ピークがずれる原因は、先に吸着した溶媒と分子鎖が既に水素結合を形成しており、後から来た溶媒の水素結合形成を妨げているからだと考えられる

図 4-11 の模式図に、純水溶液にメタノールを混合すると、水分子とメタノール分子が高分子鎖への競争的吸着が生じるとする競合的水素結合理論の様子を示す。まず純水中で、水分子が PNIPAM 分子鎖に水素結合を形成し、PNIPAM がランダムコイルになる。次に、最も激しい競合が生じる混合溶媒比率でメタノールを混合すると、先に入れた水分子と PNIPAM 分子鎖がもう水素結合しているので、分子鎖の周辺の局所領域ではメタノール分子の比率が全体の混合溶液比率より低くなっている可能性がある。そこで、その局所領域で、最も激しい競合が生じる混合溶媒比率が実現するためには、より多くメタノールを入れる必要があるのではなかろうか。その状態では、分子鎖が最も凝縮したグロビュール構造になり、持続長のピークがそこで生じる。純メタノールから変化させる逆の場合も同様に、持続長のピークの出現は少し遅れる。つまり、持続長ピークがずれる原因は、最初に導入された溶媒との水素結合が、次に入れた溶媒の水素結合の形成を妨げることにその本質があるのではないと思われる。

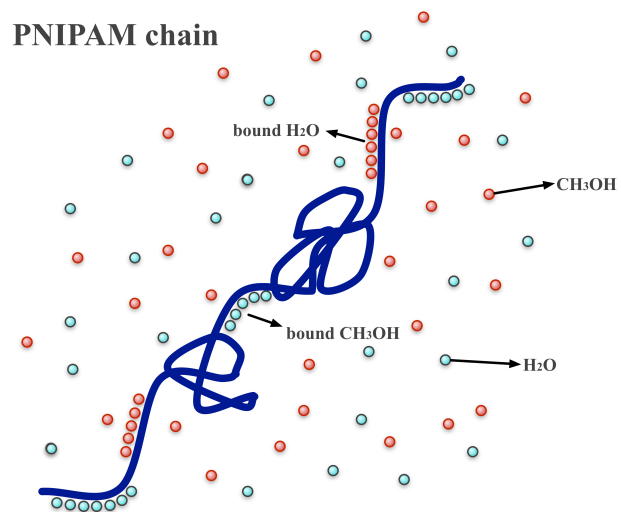


図 4-1 1 パールネックレスモデルによる競合的水素結合理論

4.4 結論

- ・チオール末端化した PNIPAM 一本鎖を基板上に吸着させ、溶媒中で伸び切り鎖近くまで伸長させることに初めて成功した。
- ・コイルーグロビュール転移に起因するプラトーカーブを捉え、その出現確率が PNIPAM 一本鎖と溶媒の間の溶解性に関係することが分かった。
- ・プラトーカーブ力の温度依存性を検証することで、田中らの協同水和理論を一本鎖レベルで初めて実証した。
- ・ナノフィッシング成功確率と伸び切り鎖長の混合溶媒濃度依存性がバルクの実験結果と一致することが分かった
- ・混合溶媒濃度の順逆方向変化により、持続長の濃度依存性に差異が生じることを見つけた。この現象は田中らの競合的水素結合理論で解釈することが妥当である。

以上、準静的なナノフィッシングによって、PNIPAM のコイルーグロビュール転移による単一分子鎖のコンフォメーション転移を確認し、田中らの協同水和理論と競合的水素結合理論を初めて一本鎖のレベルで実証した。

参考文献

- [1] Z. M. O. Rzaev; S. Dincer; E. Piskin, *Prog. Polym. Sci.*, **32**, 534 (2007).
- [2] H. G. Schild, *Prog. Polym. Sci.*, **17**, 163 (1992).
- [3] M. Heskins; J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci. Chem., A*, **2**, 1441 (1968).
- [4] S. Fujishige; K. Kubota, Ando, I. *J. Phys. Chem.*, **93**, 3311 (1989).
- [5] C. Wu; S. Zhou, *Macromolecules*, **28**, 8381 (1995).
- [6] Y. Hirokawa; T. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **81**, 6379 (1984).
- [7] K. Satoru; O. Shoji, *Langmuir*, **17**, 2402 (2001).
- [8] V. O. Aseyev,; H. Tenhu; F. M. Winnik, *In Conformation-Dependent Design of Sequences in Copolymers II*; Kohklov, A., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, **1**, (2006).
- [9] B. Sun; Y. Lin; P. Wu; H. Siesler, *Macromolecules*, **41**, 1512 (2008).
- [10] S. Sun; J. Hu.; H. Tang; P. Wu, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 9761 (2010) .
- [11] F. M. Winnik; H. Ringsdorf; J. Venzmer, *Macromolecules*, **23**, 2415 (1990).
- [12] G. Zhang; C. Wu, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 1376 (2001).
- [13] F. M. Winnik; F. Ottaviani; S. H. Bossmann; M. G. Garibay,; N. J. Turro, *Macromolecules*, **25**, 6007 (1992).
- [14] G. Zhang; C. Wu, *Macromolecules*, **123**, 1376 (2001).
- [15] Y. Okada; F. Tanaka, *Macromolecules*, **38**, 4465 (2005).
- [16] W. Zhang; X. Zhang, *Prog. Polym. Sci.*, **28**, 1271 (2003).
- [17] K. Nakajima; H. Watabe; T. Nishi, *Polymer*, **47**, 2505 (2006).
- [18] S. Cui, X. Pang, S. Zhang, Y. Yu, H. Ma, X. Zhang, *Langmuir*, **28**, 5151 (2012).
- [19] X. Zhu; C. Yan; F. M. Winnik; D. Leckband, *Langmuir*, **23**, 162 (2007).
- [20] B. J. Haupt; T. J. Senden, *Langmuir*, **18**, 2174 (2002).
- [21] P. J. Flory, *Principles of Polymer Chemistry*, Chap. XII, Cornell University Press, New York, 1971.

第5章 動的ナノフィッシングによる分子鎖のダイナミクスの解析

ナノフィッシングの研究では、多くのが準静的ナノフィッシングを用い、単一分子鎖の弾性とコンフォメーションなどの情報を通じ、一本鎖の特性を議論している。そこでは、WLC モデルなど理論モデルによるフィッティングを行い、分子鎖の持続長、伸び切り鎖長などの物理的な情報が得られた。本研究でも第4章では、準静的な伸長から温度感応性高分子 PNIPAM 一本鎖の物性の温度と混合溶媒濃度の依存性を確かめることができた。単一分子鎖のレベルで PNIPAM 分子のコイル-グロビュール転移を捉え、PNIPAM の構造相転移に関する分子レベルのメカニズムの解明に有用な知見を与えた。しかし、準静的ナノフィッシングでは一本鎖の粘弾性に関する情報は全く得ることができない。特に、低伸長領域での情報はほとんど得られない。一方、非平衡状態を扱う動的ナノフィッシングが可能になることで、単一高分子鎖の静的情報のみならず動的情報を実験的に測定できるようになってきた。

高分子ダイナミックに関する研究では、ほとんどの場合、動的粘弾性や高分子溶液などのバルクの実験が行われているのが実情である^[1-3]。近年、カンチレバーの熱揺らぎや磁気駆動などの手法で単一生体分子の粘弾性を定量的に評価する研究が幾つか報告されている^[4-7]。川上らの研究では、ポリペプチド鎖は固有の側鎖構造をもつため、その粘性が主に延伸下にある分子の内部摩擦によって支配されることが報告された。その際、周囲の溶媒との摩擦は^[8]を無視された。しかし、ペプチドなどの生体高分子の複雑な構造は一本鎖の高分子物理的ダイナミックの研究に対しては不利であるかもしれない。そのため、本研究では構造的にシンプルなポリスチレンを用いて、古典的な高分子物理学や統計力学において議論されてきた高分子鎖の粘弾性挙動を研究することを目的とした。

5.1 動的ナノフィッシングのモデル化についての計算

5.1.1 強制振動下のカンチレバー

AFM のタッピングモードでは、強制振動下のカンチレバーを減衰調和振動子と見なし、図 5-1 のように Voigt モデル(バネとダッシュポットの並列接続)を考え、以下の運動方程式を書く。

$$m\ddot{z}(t) + \eta\dot{z}(t) + kz(t) = kz_d(t) \quad (5.80)$$

ここで m は質点の質量、 η は粘性係数、 k はバネ定数である。カンチレバーの固定端に振幅 A_d の振動を加えるとすると、系に対する入力

$$z_d(t) = A_d \exp(i\omega t) \quad (5.81)$$

と表される。応答は探針の変位 z であり、 ϕ を入力-応答間の位相差とすれば、 z は

$$z(t) = A \exp(i(\omega t + \phi)) \quad (5.82)$$

である。 A は振幅、 ϕ は位相差である。

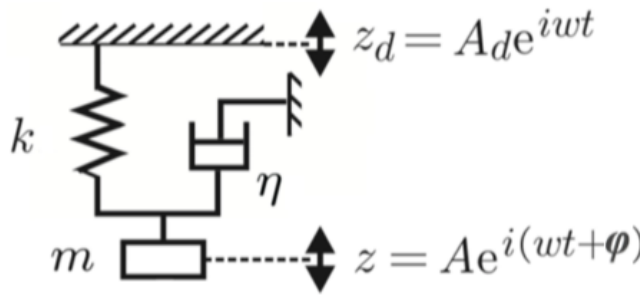


図 5-1 強制振動のカンチレバーの Voigt モデル

式(5.2)、(5.3) を式(5.1)に代入すると、

$$A(-m\omega^2 + k + i\eta\omega) = kA_d \exp(i\phi) \quad (5.83)$$

を得る。したがって、

$$A = \frac{kA_d}{\sqrt{(k - m\omega^2)^2 + \eta^2\omega^2}} \quad (5.84)$$

$$\tan \phi = \frac{\eta\omega}{k - m\omega^2} \quad (5.85)$$

となる。

$$\omega = \omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (5.86)$$

で、 $\tan \phi$ が無限大となる点を共振点と呼ぶ。この時、振幅を $A = A_0$ とすると

$$A_0 = \frac{kA_d}{\eta\omega_0} \quad (5.8)$$

式(2.5)で A の最大値を与える点は ω_0 ではない。式(5.5)の分母の根号の中を変形すると、

$$m^2 \left[\omega^2 - \omega_0^2 \left(1 - \frac{\eta^2}{2m^2\omega_0^2} \right) \right]^2 + \eta^2 \omega_0^2 \left(1 - \frac{\eta^2}{4m^2\omega_0^2} \right) \quad (5.9)$$

となる。実際の測定におけるカンチレバーへの共振周波数は、探針の振幅が最大となる周波数 ω_1 を用いており、これは溶媒中でのカンチレバーの共振曲線から求めることができる。したがって、これが最小になる時に A の最大値を与えるので $\omega = \omega_1$ として

$$\omega_1 = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{\eta^2}{2m^2\omega_0^2}} \equiv \omega_0 \sqrt{1 - \frac{1}{2Q^2}} \quad (5.10)$$

を得る。 Q は共振の鋭さを表す指標で Q 値と呼ばれる。式(5.10)からわかるように、次式で定義される。

$$Q = \frac{m\omega_0}{\eta} \quad (5.11)$$

粘性 η は Q と反比例の関係にあることにも注意が必要である。この Q を使うと、式(5.8)は

$$A_0 = \frac{kA_d}{\eta\omega_0} = \frac{m\omega_0 A_d}{\eta} \quad (5.12)$$

と変形できる。 A の最大値 A_1 は

$$A_1 = \frac{kA_d}{\eta\omega_1 \sqrt{1 - 1/4Q^2}} = \frac{A_0}{\sqrt{1 - 1/4Q^2}} \quad (5.13)$$

と書ける。ただし実測から得られる Q は通常十分大きく $\omega_1 \approx \omega_0$ 、 $A_1 \approx A_0$ と見なしてよい。実際、共振特性から得られる共振ピークは ω_1 、 A_1 に対応し ω_0 、 A_0 ではないことに注意したい。式(5.13)を少し変形すると、

$$A_1 = \frac{k(A_0/Q)}{\frac{m\omega_0^2}{Q} \sqrt{1 - 1/4Q^2}} = \frac{kA_0(1 - 1/2Q^2)}{m\omega_1^2 \sqrt{1 - 1/4Q^2}} \quad (5.14)$$

$A_1 \approx A_0$ であることに注意すると

$$m = \frac{k\sqrt{4Q^2 - 3}}{2Q\omega_1^2} \quad (5.15)$$

という関係を得る。 k_1 は熱雑音法などで実測可能な値であり、 ω_1 と Q 値もカンチレバーの共振特性を実測することで独立に数値を得ることができる。

5.1.2 分子鎖吸着時のカンチレバー

一方、カンチレバー先端の AFM 探針に分子鎖末端の片方が吸着し、基板に分子鎖のもう片方の末端が吸着している場合に、カンチレバー分子鎖系の現象論的モデルとして、図 5-2 のように連結した Voigt を用いて、運動方程式は

$$m\ddot{z}(t) + (\eta_1 + \eta_2)\dot{z}(t) + (k_1 + k_2)z(t) = k_1 z_d(t) \quad (5.16)$$

となる。ここで m は系の有効質量、 η_1 、 η_2 はそれぞれカンチレバー、高分子鎖の粘性係数、 k_1 、 k_2 はそれぞれカンチレバー、高分子鎖のバネ定数である。

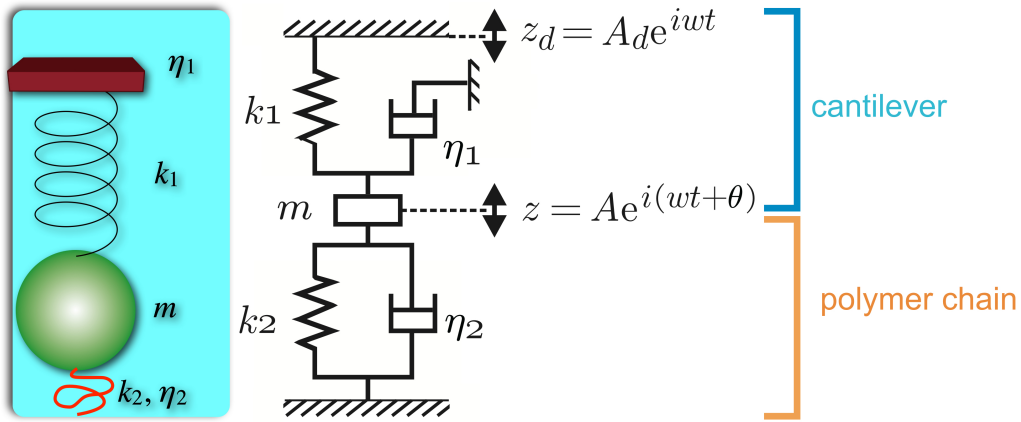


図 5-2 動的ナノフィッシングのための連結 Voigt モデル

このときのカンチレバーの振動の振幅 A と位相 ϕ の変化を測定することで、図 5-2 右に示した連結 Voigt 模型を用い、1 本の分子鎖の粘弾性を伸長過程全体にわたって連続的に評価することが可能となる。高分子鎖を伸長していない時と、している時ではこれらの値は当然異なる。伸長していない時の (A, ϕ) を (A_1, ϕ_1) 、伸長している時のそれらを (A_2, ϕ_2) とする。

$$A_2 = \frac{kA_d}{\sqrt{(k_1 + k_2 - m\omega^2)^2 + (\eta_1 + \eta_2)^2 \omega^2}} \quad (5.17)$$

$$\tan \phi_2 = \frac{(\eta_1 + \eta_2)\omega}{k_1 + k_2 - m\omega^2} \quad (5.18)$$

である。簡単のため以下の略号を用いる。

$$a_1 = k_1 - m\omega_1^2 \quad (5.19)$$

$$b_1 = \eta_1 \omega_1 \quad (5.20)$$

$$a_2 = (k_1 + k_2) - m\omega_1^2 \quad (5.21)$$

$$b_2 = (\eta_1 + \eta_2)\omega_1 \quad (5.22)$$

と置く。すると

$$A_1 = \frac{kA_d}{\sqrt{a_1^2 + b_1^2}} \quad (5.23)$$

$$\tan \phi_1 = \frac{b_1}{a_1} \quad (5.24)$$

$$A_2 = \frac{kA_d}{\sqrt{a_2^2 + b_2^2}} \quad (5.25)$$

$$\tan \phi_2 = \frac{b_2}{a_2} \quad (5.26)$$

振幅比 $A_r = A_1/A_2$ と位相差の差 $\Delta = \phi_1 - \phi_2$ を定義すると、

$$A_r \equiv \frac{A_1}{A_2} = \frac{\sqrt{a_2^2 + b_2^2}}{\sqrt{a_1^2 + b_1^2}} \quad (5.27)$$

$$\tan \Delta \equiv \tan(\phi_1 - \phi_2) = \frac{\tan \phi_1 - \tan \phi_2}{1 + \tan \phi_1 \tan \phi_2} = \frac{a_2 b_1 - a_1 b_2}{a_1 a_2 + b_1 b_2} \quad (5.28)$$

となる。式(5.27)、(5.28)を a_2 、 b_2 に関する連立方程式として解くと、

$$a_2 = A_r (a_1 \cos \Delta + b_1 \sin \Delta) \quad (5.29)$$

$$b_2 = A_r (b_1 \cos \Delta - a_1 \sin \Delta) \quad (5.30)$$

となる。したがって、

$$k_2 = a_2 - a_1, \quad \eta_2 = \frac{b_2 - b_1}{\omega_1} \quad (5.31)$$

である。すると分子の有効弾性定数（バネ定数）と有効粘性係数（摩擦係数）は以下の式で表される。

$$k_2 = \frac{A_1}{A} \{ (k_1 - m\omega^2) \cos \Delta + \eta_1 \omega \sin \Delta \} - (k_1 - m\omega^2) \quad (5.32)$$

$$\eta_2 = \frac{A_1}{A\omega} \{ \eta_1 \omega \cos \Delta - (k_1 - m\omega^2) \sin \Delta \} - \eta_1 \quad (5.33)$$

を得る。以上、式(5.32)、(5.33)で求められる k_2 と η_2 とが、我々が計測したい値である。式(5.32)、(5.33)の右辺のすべての量は実測可能な量である。また、本研究では

$$\tau = \eta_2 / k_2 \quad (5.34)$$

と緩和時間を定義する。

5.2 一本鎖の粘弾性

5.2.1 一本鎖の伸長-粘弾性曲線

図5-3が実験で直接に得られる(a) 張力、(b) 振幅及び(c) 位相差のデータである。青色が押し込み過程、赤色が引き離し仮定である。実は、静的ナノフィッシングと同様の張力-伸長曲線観測され、伸長長さが180nmのところ破断し、分子鎖持続長と鎖長は静的なナノフィッシングと同様に算出できた。フリーな場合の振動振幅は A_1, A_2 とも3.0 nmであり、基板に近づくとき基板との相互作用で振幅は減少する。位相も同様で ϕ_1, ϕ_2 ともフリーな振動では90°であり、基板に近づくとき減少する。興味深いのは、赤線では分子鎖が伸長されると振幅が小さくなり、位相差も自由振動の値からずれ、破断が起きると自由振動の値に戻ることである。 A_1 と ϕ_1 にはこの変化が現れず、分子を伸長している時にだけ得られる特徴的なものである。

図5-3の結果を元に、式(5.32)と(5.33)から計算される高分子鎖のバネ定数と粘性係数を図5-4に示す。図5-4(a)の弾性係数においてはエントロピー弾性に起因する初期の一定値と伸びきり鎖効果による見かけの上昇が見られる。つまり、中低伸長から高伸長までで生じている変化は、配位エントロピーが支配する現象から結合のエンタルピーが支配する現象への転移だと考えられる。図5-4(b)の粘性係数についても初期は一定の値を保つが、後半伸びきり効果が見え始めると同時に上昇する傾向がある。

ノイズの多い状態で、グラフからは読み取り難いが、それぞれのグラフに挿入した拡大図から低伸長領域の一定値が得られる。図5-4(a)からはバネ定数 $k_2 = (4.02 \pm 1.36) \times 10^{-6}$ N/m が、図5-4(b)からは粘性係数 $\eta_2 = (7.15 \pm 1.46) \times 10^{-10}$ kg/s という値が得られる。弾性の方は準静的なナノフィッシングで得られている値とオーダー的にあっている。手法の違いということで観察している現象が多少に異なっているが、周波数依存性などに由来する差異として詳細の検討は今後の課題としておく。低伸長領域での粘性は今回の研究によって動的ナノフィッシングで初めて検出された量である。高伸長領域での粘性の急激な増加に対して、当研究室の過去の研究では、分子鎖の伸張に従って、モノマーと周囲の溶媒分子との接触面積が大きくなるために増加すると考えていた。しかし、高伸長領域では分子主鎖の結合も伸長するため、粘性の急激な増加が接触面積の変化の寄与だけという仮定は適当ではない。一方、低伸長領域では分子鎖がランダムコイル状態になり、そこで測定された一定値の粘性は高分子分子内と溶媒間の相互作用を捕らえていることを示唆している。そこで、本研究では高分子一次構造の結合に関する難しい議論を避けるため、中低伸長領域における粘弾性にだけ注目した。次節ではこの粘性の起源を追及する。

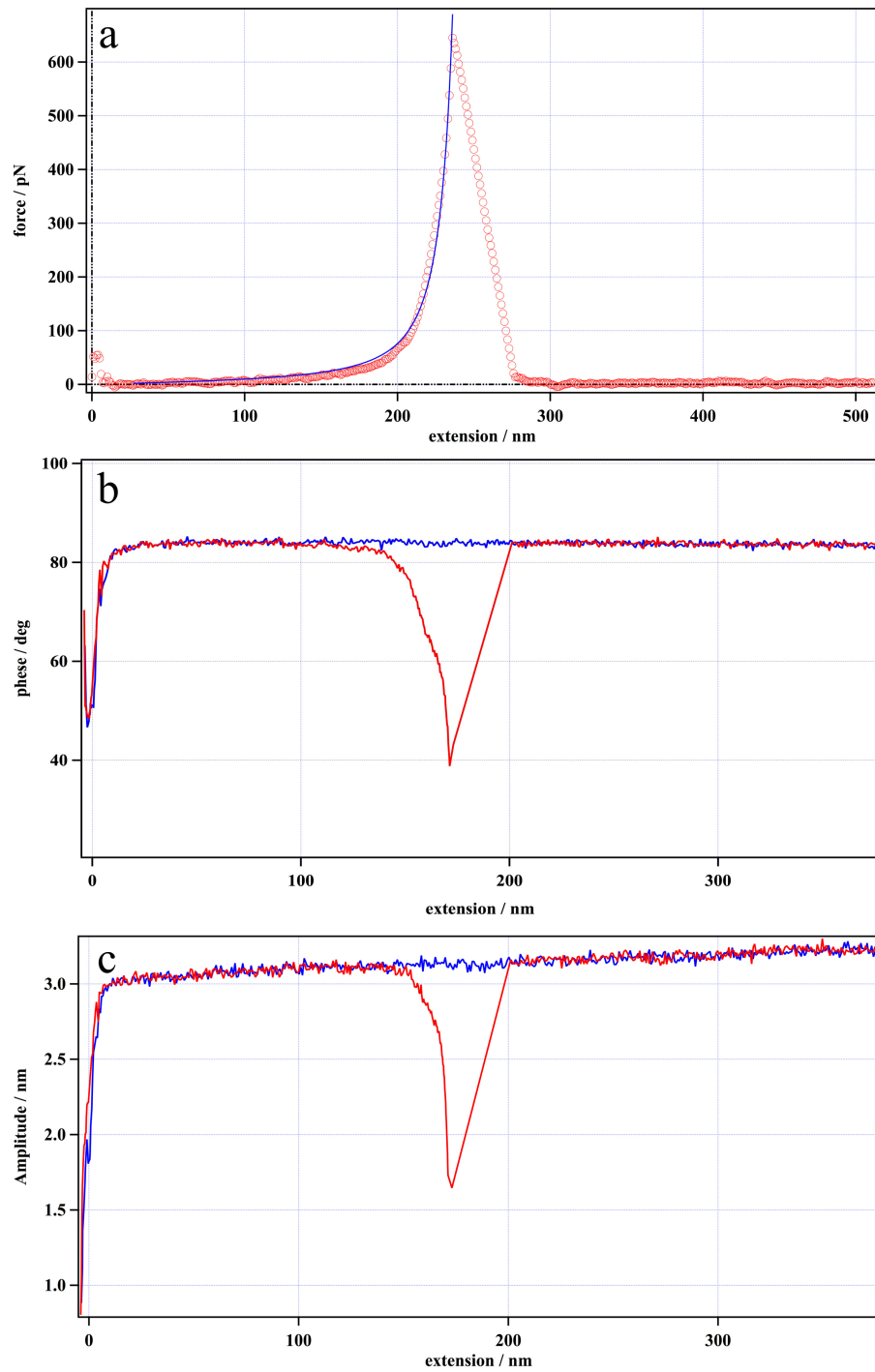


図 5-3 ポリスチレンの動的ナノフィッシングによる(a)張力-伸長曲線、(b)振幅-伸長曲線、(c) 位相-伸長曲線

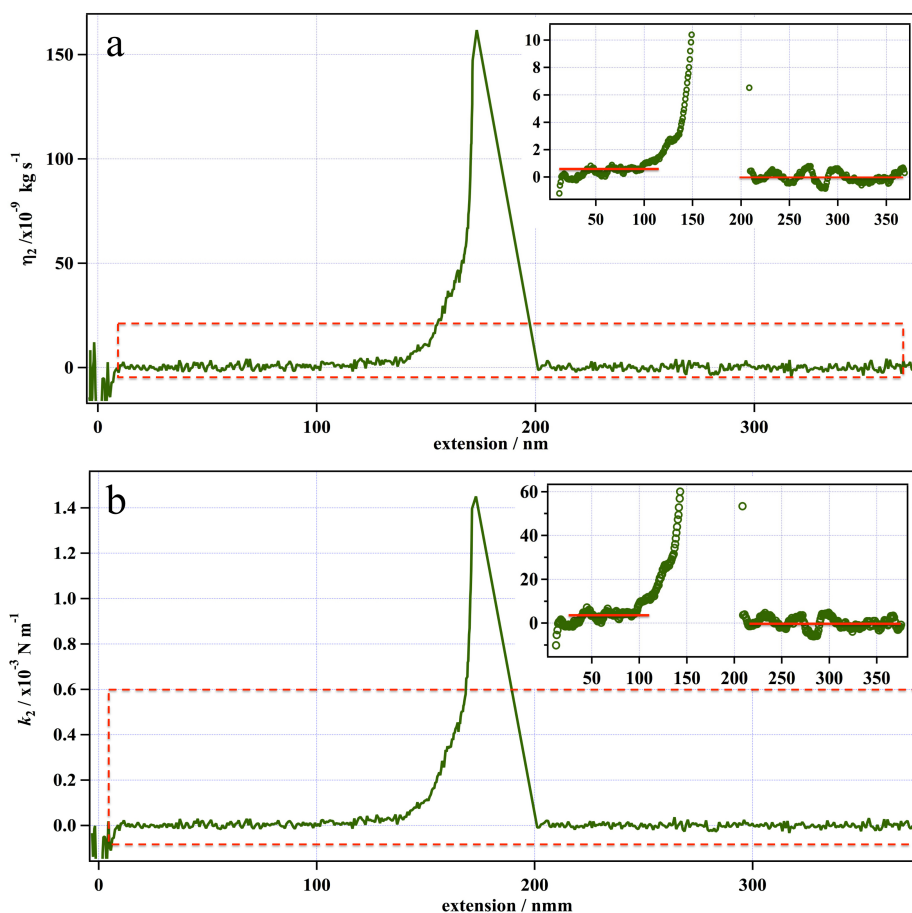


図 5-4 動的ナノフィッシングによって得た一本鎖の粘弾性情報

5.2.2 一本鎖粘弾性理論の検証

川上らによる以前の報告では^[8]、ポリペプチド鎖を試料として図 5-4 (b)と同様の粘性係数の曲線が得られた。ポリペプチド鎖の場合で粘性係数は 10^{-7} kg/s のレベルであり、本研究のポリスチレンより十分高いことがわかる。ポリペプチド鎖が複雑な側鎖構造をもち、低伸長領域での粘性が水素結合構造に起因した分子内部摩擦が主因だと思われる。一方、本研究ではシンプルな化学構造をもつ合成高分子ポリスチレンを用いており、高分子鎖の粘性の物理的起源を説明することを可能にさせる。

希薄溶液中の高分子鎖の粘弾性理論は最初 Rouse によって提唱された。第 2 章に述べたように Rouse 模型は弾性としては理想鎖を仮定し、粘性としてはすぬけとする。粘性由来の摩擦力が

$$f_{Rouse} = \zeta_s n \frac{dr}{dt} \quad (5. 35)$$

と書ける。ここで、 ζ_s が溶媒分子とモノマーの間の摩擦係数、 n がモノマーの数である。Zimm 模型は理想鎖を仮定するが、粘性としては流体力学的な剛体球を仮定する。

$$f_{\text{Zimm}} = 6\pi\eta_s R_0 \frac{dr}{dt} \quad (5. 36)$$

ここで、 η_s が溶媒粘度で、 R_0 が理想鎖の末端間距離である。Kirkwood 模型は剛体球近似ではあるが、そのサイズとしては実在鎖を仮定する。

$$f_{\text{kirkwood}} = 6\pi\eta_s R_F \frac{dr}{dt} \quad (5. 37)$$

ここで、 R_F が実在鎖の末端間距離である。既存の理論は、表 5-1 中に示したように、希薄高分子溶液の弾性、粘性及び緩和時間に関する異なる重合度依存性を与える。理論を検証するために、弾性と粘性の高分子鎖長依存性を調べた。

表 5-1 粘弾性の模型

	k	η	$\tau = \eta/k$
Rouse	$\sim N^{-1}$	$\sim N$	$\sim N^2$
Zimm	$\sim N^{-1}$	$\sim N^{0.5}$	$\sim N^{1.5}$
Kirkwood	$\sim N^{-1.2}$	$\sim N^{0.6}$	$\sim N^{1.8}$

図 5-5 にはランダムコイル時のバネ定数と粘性係数の重合度依存性を示す。バネ定数は理想鎖であれば N^{-1} の依存性になるし、実在鎖であれば $N^{-1.2}$ になる。図 5-5 (b) の傾きは -1.13 ± 0.17 で実在鎖に近い。一方、粘性係数は Rouse 模型(すぬけ、理想鎖)であれば N 、Zimm 模型(剛体球、理想鎖) であれば $N^{0.5}$ 、Kirkwood 模型(剛体球、実在鎖)であれば $N^{0.6}$ になる。実測値は 0.76 ± 0.16 で、Kirkwood 模型に近い。今までの結果からは Kirkwood 模型に軍配が上がったが、誤差まで考えるとまだ結論するには早い。

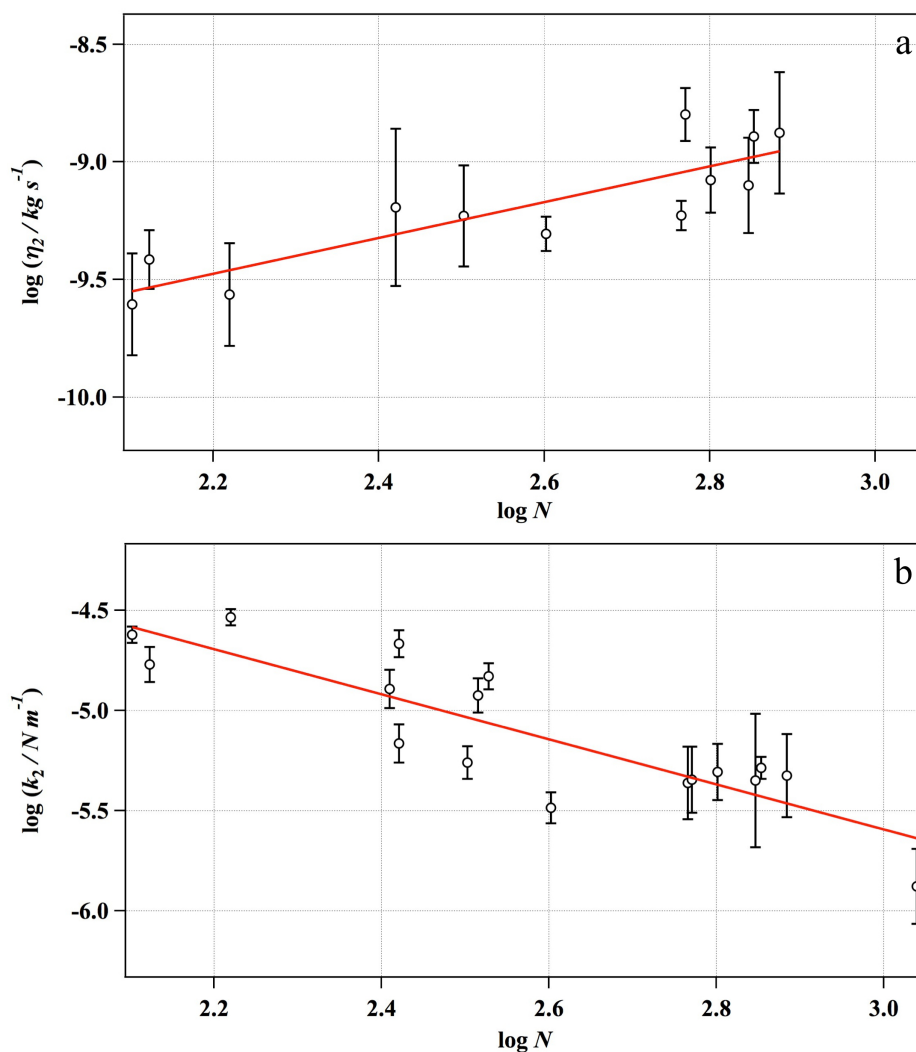


図 5-5 トルエン中での一本鎖の粘弾性の重合度依存性 Kirkwood 模型が現象をもっとも良く再現した。

さらに、粘性係数と弾性係数の比として求められる緩和時間の N 依存性を図 5-6 に示す。その傾きは 1.79 ± 0.20 となった。Rouse 模型と Zimm 模型は理想鎖を仮定しているので、それぞれ N^2 、 $N^{1.5}$ の依存性となり、実在鎖を仮定する Kirkwood 模型であれば $N^{1.8}$ になる。以上、高分子一本鎖の粘弾性が Kirkwood 模型の予測と一致する結論が確認できた。

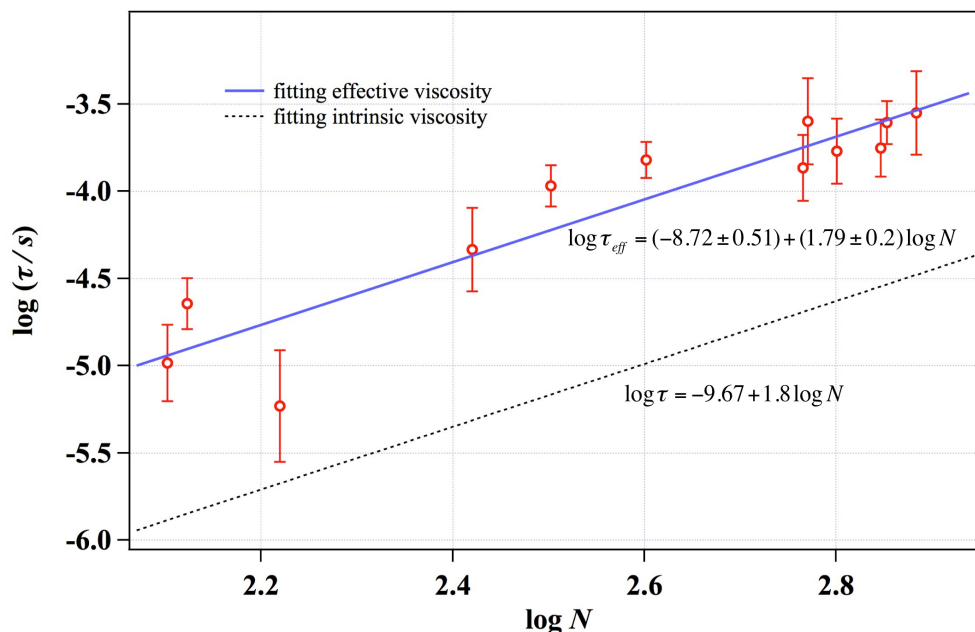


図 5-6 トルエン中での一本鎖の緩和時間の重合度依存性

5.2.3 一本鎖の有効粘度

さらに、一本鎖の緩和時間に関して議論を進める。Kirkwood模型では、

$$\tau = \frac{\eta}{k} = \frac{6\pi\eta_s R_F^3}{k_B T} \quad (5.38)$$

と書ける。 η_s は溶媒の粘度である。したがって、

$$\log \tau = \log \frac{6\pi\eta_s a^3}{k_B T} + 1.8 \log N \quad (5.39)$$

である。トルエンの粘度0.52 cpおよび実験的に求めたセグメント長0.45 nmを式(5.39)に代入すると切片の値は-9.67となる(図 5-6 の破線)。実測は-8.72 ± 0.51とそれほど近い値ではない。逆に実測値から粘度を推定すると、

$$\eta_{eff} = (8.9 \pm 4.4) \eta_{s-toluene} \quad (5.40)$$

となった。そこでこの粘度を高分子鎖の有効粘度と定義した。高分子鎖が感じる有効粘度はトルエンの溶媒粘度のほぼ9倍になり、溶媒粘度より十分に大きい。そのため有効粘度が溶媒粘度の寄与だけではなく、別の寄与も存在することを暗示している。有効粘度の本質を次に議論する。

5.3 粘弾性の溶媒依存性

5.3.1 異なる溶媒における粘弾性

ここまでの実験結果はすべて良溶媒としてのトルエンを用いていたが、有効粘度の起源を追及するため、ジメチルホルムアミド（DMF、非良溶媒）やメタノール（貧溶媒）などの異なる溶媒中で同様の実験を行った。図5-7に各溶媒でのバネ定数と粘性係数の重合度依存性を示す。DMFとメタノールでの粘性の分子量依存性では傾きはそれぞれ -1.19 ± 0.09 、 -1.30 ± 0.20 であり、傾きはそれぞれ 0.56 ± 0.21 、 0.72 ± 0.18 であり、Kirkwood 模型の $N^{1.2}$ と $N^{0.6}$ とよく一致することが分かる。各溶媒での一本鎖弾性がトルエンよりほぼ同じである一方、粘性ではDMFとメタノールがトルエンより小さくなるが見られる。分子鎖の弾性は低伸長領域ではエントロピー弾性に支配され、溶媒の種類とは直接的な関係なく、分子鎖の粘性は分子鎖と溶媒の相互作用と関係あるためだと考えられる。

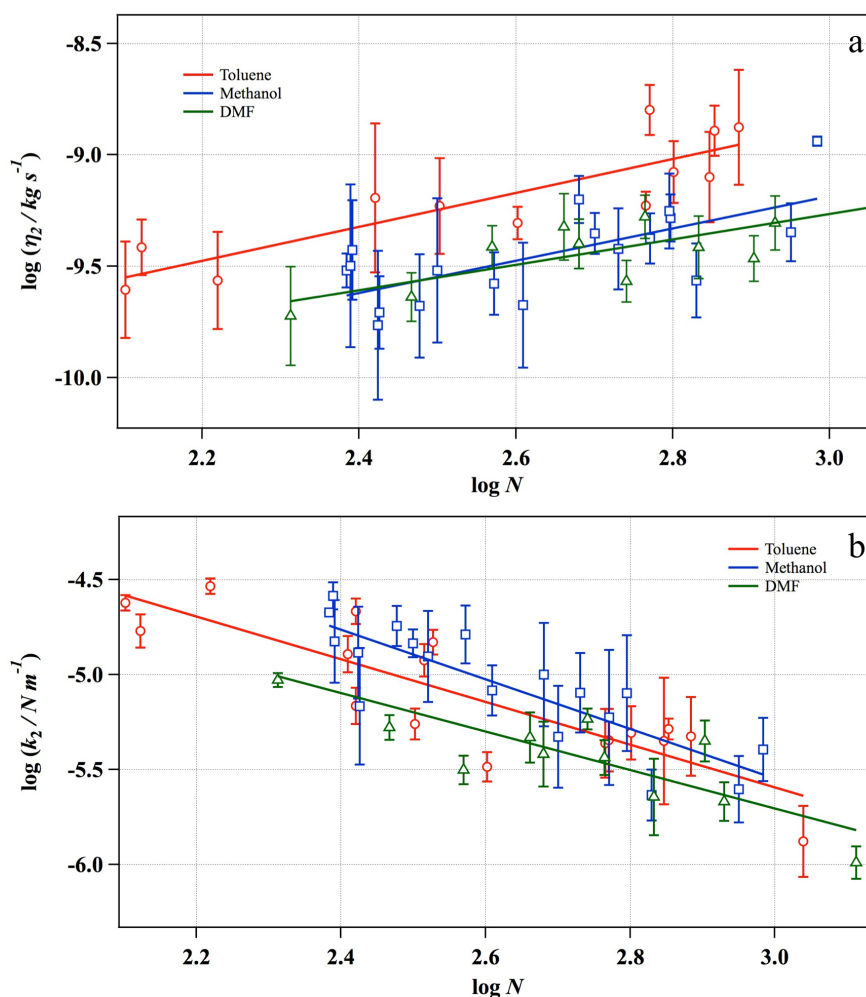


図5-7 異なる溶媒における一本鎖の粘弾性の重合度依存性

5.3.2 異なる溶媒における有効粘度

図5-8に各溶媒での緩和時間の重合度依存性を示す。メタノールを例として、固有粘度 0.53 cp とセグメント長 0.45 nm を代入すると、傾きは-9.6 となった。実験値が-9.47（誤差付きで書いて）である。式(5.39)の計算により、高分子の有効粘度がメタノールの固有粘度の 1.3 倍になるという結果が得られた。トルエン、DMF 及びメタノールの結果を表5-2に示した。トルエンの溶媒粘度は DMF の 0.65 倍程度である一方、トルエンで最も大きい有効粘度が得られる。そのため、高分子の有効粘度の大小は溶媒粘度の大小と全く関係ないことが分かった。

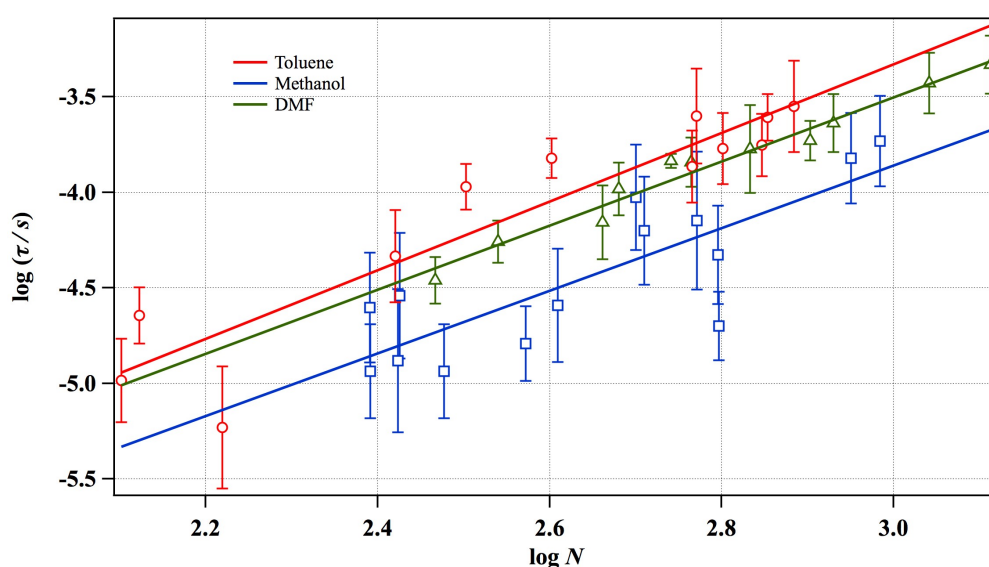


図5-8 異なる溶媒における一本鎖の緩和時間の重合度依存性

さらに、分子鎖と溶媒の相互作用を定量的に評価するため、溶解度パラメーター（ δ ）を導入した。溶解度パラメーターは、溶質と溶媒の間の相互作用を定量的に評価し、それらの分子間力を表す尺度として使用される。すなわち、2つの成分の溶解度パラメーター値の差が小さいほど溶解度が大きくなり、分子間相互作用が強いということがよく知られている。表5-2に示したように^[9]、トルエンの溶解度パラメーター値がポリスチレンに最も近く、最も大きい有効粘度が得られた。有効粘度が溶解度パラメーターと強い相関を示すのである。より興味深いことは、図5-9に示したように溶媒粘度と有効粘度の比が相互作用係数 χ に対して直線的に依存することを発見した。以上、高分子鎖の粘性は従来まで物理のテーマとして研究されてきたが、本研究から一本鎖の粘性は溶媒粘度と関わらず、分子鎖と溶媒の化学的相互作用と相関性があることが分かった。今後の課題ではあるが、一本鎖の測定から高分子の溶解メカニズムの議論が行えるのが面白いと考える。

表 5-2 異なる溶媒の溶媒粘度、溶解パラメーター及び有効粘度

	溶媒粘度 η_s / cp	溶解パラメーター δ_s / (J/cm ³) ^{0.5}	有効粘度 η_{eff}
Toluene	0.52	8.8	(8.9±4.4) $\eta_{s-toluene}$
DMF	0.92	12	(3.2±1.3) η_{s-DMF}
Methanol	0.53	14.5	(1.3±0.6) $\eta_{s-methanol}$
PS	—	8.7-9.2	—

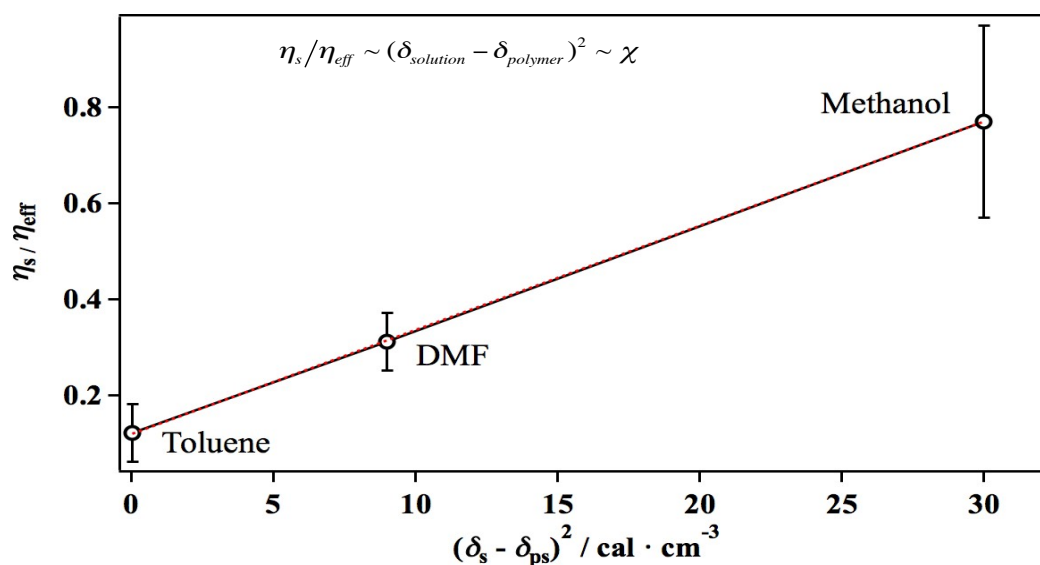


図 5-9 有効粘度と溶媒・高分子鎖間の相互作用係数 χ の相関性 溶媒粘度と分子鎖の感じる有効粘度の比率が SP 値と直線的な関係にあることが分かった。

5.4 結論

- ・カンチレバーに8-10kHzの振動を加える動的ナノフィッシングでは、低伸長領域での高分子一本鎖の粘弾性を定量的に測定できた。

- ・高分子一本鎖粘弾性と緩和時間の分子量依存性を確かめ、それが高分子鎖の粘弾性を記述するKirkwood模型による予測と一致することが分かった

- ・Kirkwood模型に対して実験結果をフィッティングすることによって、高分子鎖の有効粘度が得られた。溶媒粘度と有効粘度の比が溶解パラメーター値に対して直線的に依存することを示した。高分子鎖の粘性は従来まで物理のテーマとして研究されてきたが、本研究から一本鎖の粘性は溶媒粘度に関わらず、分子鎖と溶媒の化学的相互作用と相関性があることが分かった。

以上、動的ナノフィッシングによってPS一本鎖の粘弾性と緩和時間を測定し、その重合度依存性がKirkwood理論と一致することが分った。さらに、高分子鎖の有効粘度が溶媒粘度とは関係なく、分子鎖と溶媒の相互作用パラメーターと関係あることが初めて確認された。

参考文献

- [1] M. T. Shaw, *Introduction to Polymer Viscoelasticity*, 3rd ed.; Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2005.
- [2] L. J. Fetters; D. J. Lohse; D. Richter; T. A. Witten; A. Zirkel, *Macromolecules*, **27**, 4639 (1994).
- [3] T. Igarashi, S. Fujinami, T. Nishi, N. Asao and K. Nakajima, *Macromolecules*, **46**, 1916 (2013).
- [4] M. Kawakami; K. Byrne; B. S. Khatri; T. B. Mcleish; S. E. Radford; D. A. Smith, *Langmuir*, **21**, 4765 (2005).
- [5] F. Kienberger; V. P. Pastushenko; G. Kada; H. J. Gruber; C. Riener; H. Schindler; P. Hinterdorfer, *Single Molecules*, **2**, 123 (2000).
- [6] M. Kawakami; K. Byrne; D. J. Brockwell; S. E. Radford; D. A. Smith, *Biophysical Journal*, **91**, L16 (2006).
- [7] Y. Taniguchi; B. S. Khatri; D. J. Brockwell; E. Paci; M. Kawakami, *Biophysical Journal*, **99**, 257 (2010).
- [8] B. S. Khatri; K. Byrne; M. Kawakami; D. J. Brockwell; D. A. Smith; S. E. Radford; T. B. Mcleish, *Faraday Discuss*, **139**, 35 (2008).
- [9] E. Grulke, *Polymer handbook*. John Wiley & Sons: New York 1999.

第6章 表面エネルギー散逸と粘弾性仕事の定量的な評価

第4章と第5章で、一本鎖物性に関する研究を記述した。第6章から、材料表面ナノスケール物性を議論する。接着性、摩擦などの高分子表面の性質を理解することは、材料開発への応用に重要である^[1-6]。多くの報告は、バルクレベルの実験により、材料表面でそこから逸脱している特性を大まかに推定している。表面の機械特性を直接的かつ定量的に評価することは、長い間の技術課題となっている。これまでの我々の研究室の研究では、ナノ触診 AFM を用いて、凝着相互作用を考慮した弾性体の接触力学モデルである JKR 理論によって真の凹凸、変形量、凝着エネルギーおよび弾性率などの情報を得ていた。図6-1はスチレン-エチレンブチレン-スチレン共重合ブロックコポリマー(SEBS) の真の凹凸像、変形量像およびヤング率像を示す。しかし、高分子特性として特徴的な粘弾性、特に粘性情報について定量的に評価できないという問題があった。本研究では、粘性情報の評価方法の確立を目指し、ナノ触診 AFM の展開について紹介させて頂く。

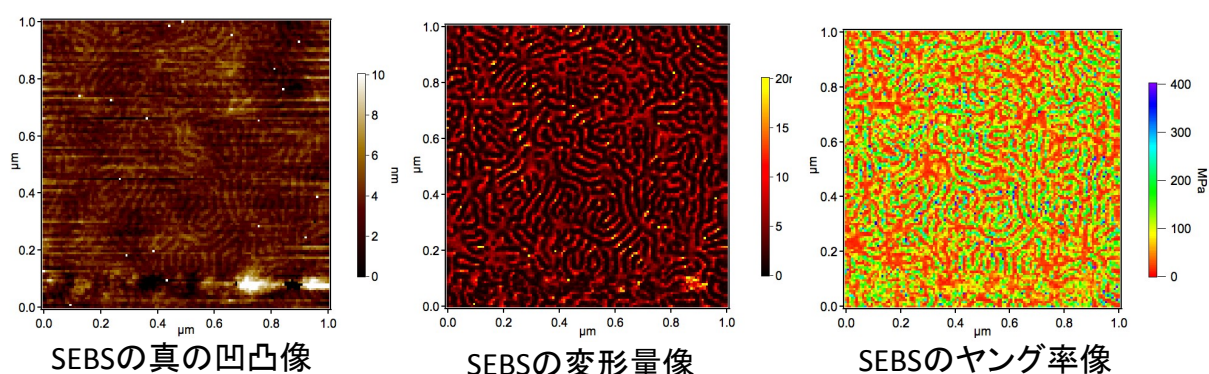


図6-1 ナノ触診AFMによるSEBSの真の凹凸像、変形量像およびヤング率像、範囲1.0μm。

6.1 タッピングモードによるエネルギー散逸

6.1.1 位相像

タッピングモードとは、AFM のカンチレバーをその共振周波数近傍で強制振動させ、探針を間欠的に試料に接触させる。すると、探針と試料の間の相互作用のために、強制振動の振幅や振動源の入力と探針の振動応答の位相差が変化する。図 6-2 (a)は SEBS 試料の位相像を示す。位相像から、ナノスケールの相分離構造がはっきりと観察できる。位相像ではいくつかの理由によりナノ触診による画像（図 6-1）よりきれいな相分離構造を取得できるが、位相差の解釈が難しいために結果としては得られる情報は少ない。振動しているカンチレバーは試料表面に接触した時に、試料の粘弾性や凝着ヒステリシスなどの複雑な相互作用に影響を受けるため、単純な線形変化ではない。そのため、カンチレバーの動作を描くモデルは位相差の理解のために非常に重要である。

カンチレバーの振動は、動的ナノフィッシングの解析では減衰調和振動子として記述できる。タッピングモードのカンチレバー振動も同様に減衰調和振動子を見なすことができる。詳しい計算は第章で述べたのでここでは省略する。また、多くの仮定をおいていることもここでは割愛する。要するに、エネルギー散逸は入力と出力のエネルギー差として振幅の変化と位相差から算出でき、

$$E_{dis} = \frac{\pi k}{Q} A_0 A \left(\sin \varphi - \frac{\omega}{\omega_0} \frac{A}{A_0} \right) \quad (6.1)$$

のようになる。ここで k はカンチレバーのバネ定数で、 ω_0 、 ω 及び A_0 、 A は周波数と振幅で、0 の添字がある方が自由な共振状態での値ということである。これらの値はすべて測定可能なものがあるので、数値として散逸エネルギーを求めることができる。 A/A_0 はタッピングモードではフィードバックに用いる信号である。この測定では、 $A/A_0 = 0.8$ であった。

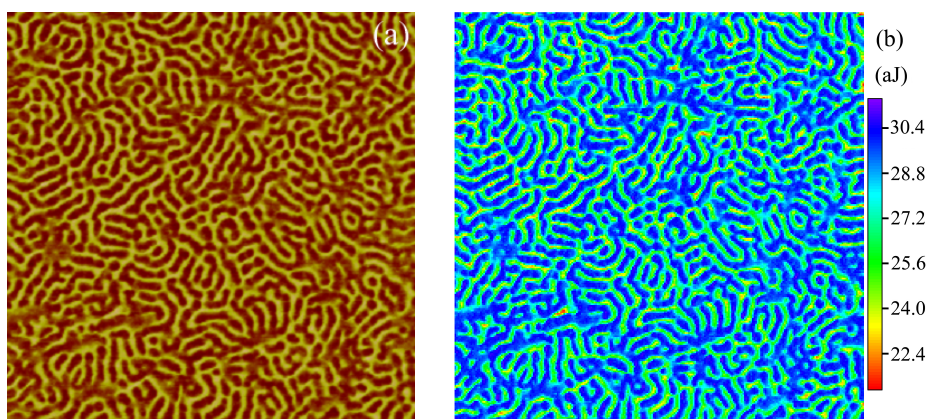


図 6-2 タッピングモードによるSEBSの位相像(a)とエネルギー散逸像(b)（走査範囲1.0 μ m）

6.1.2 エネルギー散逸

タッピングモードによって直接得られる位相像と振幅像を式(6.1)に代入することで、表面エネルギー散逸像(図6-2(b))が得られる。表面エネルギー散逸像によっても、相分離構造が観察される。その中で、低エネルギー散逸相(緑の部分)が硬いPSブロックに対応し、高エネルギー散逸相(青の部分)がソフトのPEBブロックに対応すると考える。図6-3はPEBブロックとPSブロックにおける、エネルギー散逸 E_{dis} と振幅比 A/A_0 の関係を示す。Garciaらによる研究(図6-4)と比較することにより、粘弾性力がAFMチップとSEBS表面の間の散逸過程に支配されることを示唆している。また、全領域でPEBのエネルギー散逸がPSより高い。よって、エネルギー散逸を指標にすると、ゴム状態にあるPEB相とガラス状態にあるPS相が明確に分離されているのが分かる。ただしタッピングモードのような高周波刺激に対して、PEB相がまだゴム状態にあるかどうかは、温度時間換算則に基づくより詳細な検討が必要であろう。

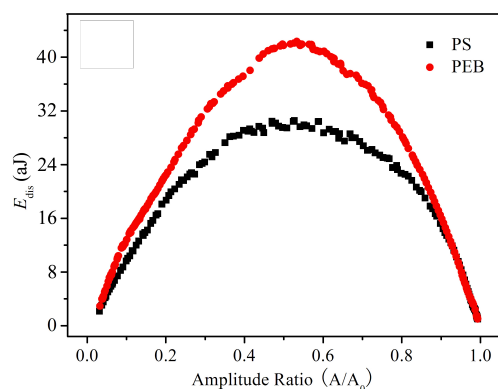


図6-3 エネルギー散逸 E_{DIS} と振幅比 A/A_0 の関数

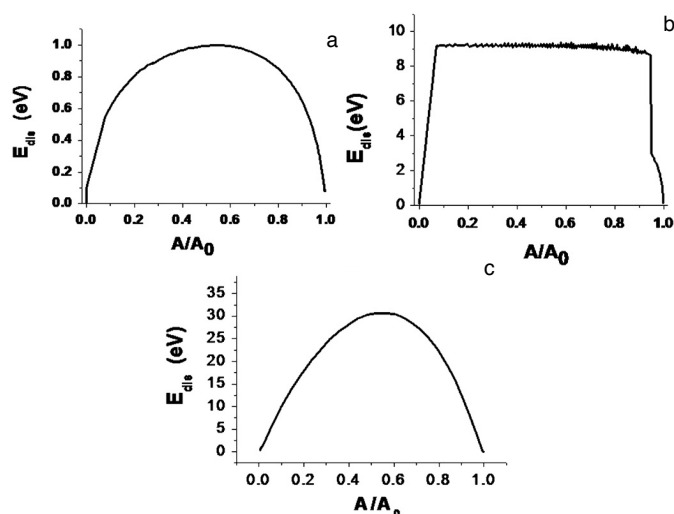


図6-4 Garciaらによる、(a)長距離表面接着ヒステリシス、(b)短距離表面接着ヒステリシス及び(c) 粘弾性の場合のエネルギー散逸 E_{dis} と振幅比 A/A_0 の関係

図6-5は図6-2(b)から得たヒストグラムグラフである。エネルギー散逸のヒストグラムを二重ガウスフィッティングすると、低い方ピークの面積が全体の41%となり、SEBS中のPS相の成分比42%という事実と一致する。その結果、低エネルギーピークがPS相で、高エネルギーピークがPEB相だと判断できる。ガウスフィッティングによって、PEBブロックの $E_{\text{dis-PEB}} \approx 41.0 \text{ aJ}$ と、PSブロックの $E_{\text{dis-PS}} \approx 33.2 \text{ aJ}$ が得られた。PEBとPSのエネルギー散逸の比率は $E_{\text{dis-PEB}} / E_{\text{dis-PS}} \approx 1.24$ となった。

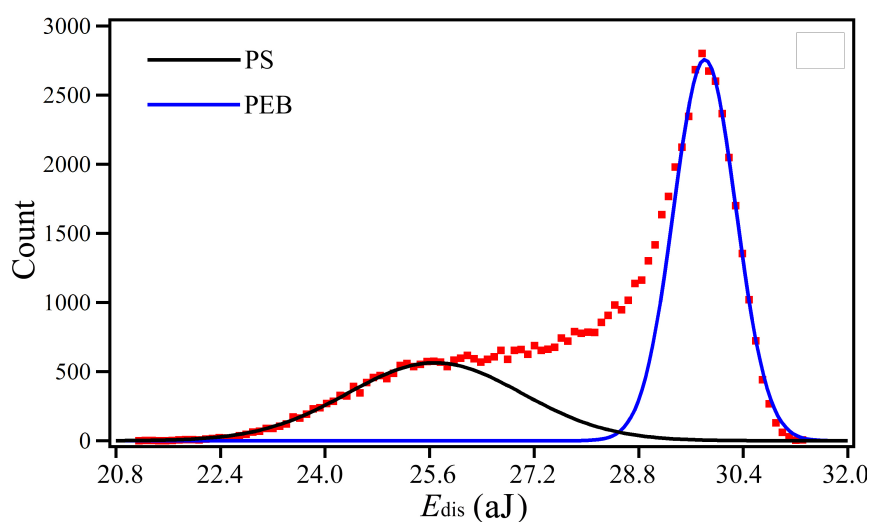


図6-5 図6-2 bから得たエネルギー散逸のヒストグラム

しかし、粘性の寄与が小さいはずのガラス状態にあるPS相でもエネルギー散逸はゼロではないことは看過できない。これはタッピングモードでのエネルギー散逸のパスが粘性だけではなく、別の寄与（主には凝着ヒステリシスの寄与だと推測している）も存在することを暗示している。要するに、粘性の評価を目指していたが、タッピングモードでは粘性要素のみを引き出すことができないことが判明したことになる。

6.2 ナノ触診 AFM によるエネルギー散逸と粘弾性仕事

6.2.1 ナノ触診 AFM によるエネルギー散逸

ナノ触診AFMは、試料表面各点でフォースカーブ測定を行うフォースボリュームモード（FVモード）と上述の接触力学を結合することにより、変形量や弾性率などの情報を算出し、二次元的にそれらをマッピングする手法である。図6-6(a)、(b)はそれぞれナノ触診AFMによるPEB相とPS相のフォースディスタンスカーブを示す。両相とも押し込み時のカーブと引き離し時のカーブに差異が生じていた。両カーブで囲まれた面積を（往復1サイクルの間に失われたエネルギーという意味での）エネルギー散逸と定義し、画像化したものが図6-7である。画像はあまりクリアではないが、両相の違いが分かる。ナノ触診AFMによれば、エネルギー散逸像が得られると共に、ヤング率像などの別の情報も同時に取得できる。それによって軟らかい応答（黄の部分）を示すはずのPEBブロックはエネルギー散逸が大きく、硬い応答（緑の部分）を示すPSブロックはエネルギー散逸が小さいことが確認できる。ナノ触診AFMの利点である。ナノ触診AFMによるエネルギー散逸像の統計を行うことで、 $E_{\text{dis-PEB}} / E_{\text{dis-PS}} = 40.2\text{aJ} / 31.6\text{aJ} \approx 1.27$ を得た。この比率はタッピングモードで得られる結果（1.24）と近く、両者が由来を同じにするのエネルギー

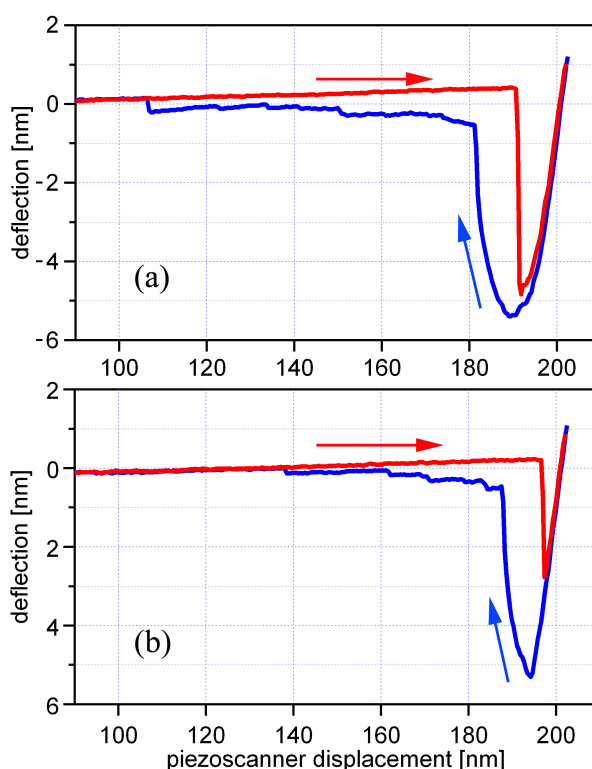


図6-6 SEBS上で計測されたフォースディスタンスカーブ (a) PEB相と (b) PS相 フォースカーブで囲まれる面積をエネルギー散逸と定義する

ルギー散逸を見ていることを示唆している。ナノ触診AFMの利点は、実際のカーブが収録されることであり、そのため探針と試料の接触の間に何が起きたのかがより明確に分かることである。タッピングモードでもFVモードでも、粘性の寄与が期待できないPS相でもエネルギー散逸が生じていた。フォースディスタンスカーブの解析から、それは押し込み時および引き離し時の凝着力の違い（凝着ヒステリシス）によって生じたものであることが明らかとなった。

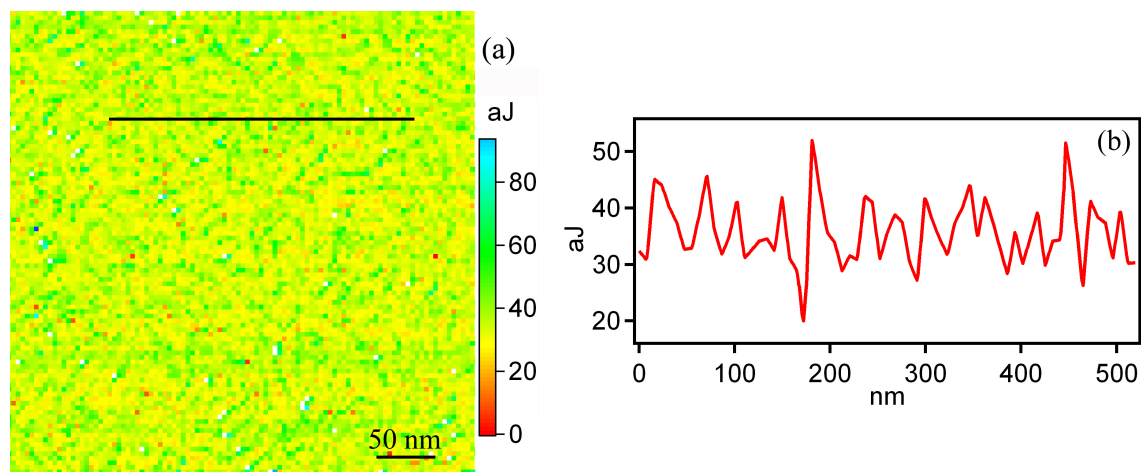


図 6-7 ナノ触診AFMによるエネルギー散逸像 (a) と (b) が(a)上のラインに沿ってのエネルギー散逸のプロファイル

6.2.2 ナノ触診 AFM による粘弾性仕事

ナノ触診AFMの解析では、弾性体の接触力学モデルであるJKR理論を用いて、試料表面の物性情報が得られる。図 6-8 (a)、(b)はナノ触診AFM によるPEB相とPS相の力-試料変形曲線を示す。JKR理論によるカーブフィッティングを詳しく見ると、ヤング率の高いPS部分はピンクの線で示した弾性体理論でよくフィッティングできている一方、ヤング率の低いPEB部分では大きなずれが見られる。弾性体の接触力学モデルであるJKR理論による純弾性体を仮定した場合のカーブを重ね、実際のカーブとの間の面積を求めて、それを粘弾性仕事と定義した。

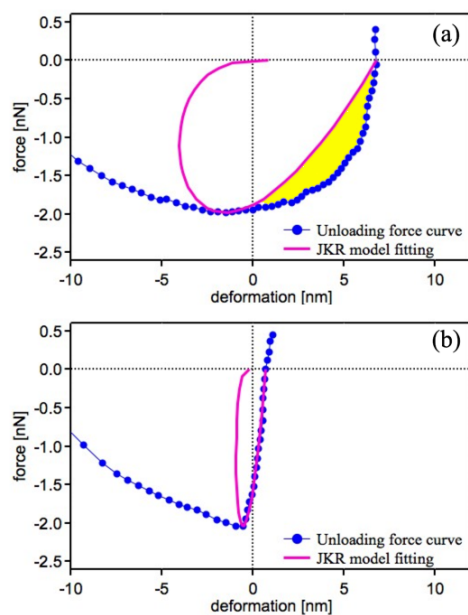


図 6-8 SEBS上で計測された試料応力-変形曲線 JKR理論カーブと実験カーブで囲まれる面積（黄色の部分）を粘弾性仕事と定義する

図 6-9 (a)が粘弾性仕事像であり、コントラストが高い。これはPS相では粘弾性仕事がほとんどゼロになり、PEB相のみで有限の値をもっていたことに起因する。したがって、これが粘性によるエネルギー散逸だと結論できる。 $E_{\text{dis-PEB}} / E_{\text{dis-PS}} = 4.5\text{aJ} / 0.55\text{aJ} = 8.2$ を得た。力-試料変形曲線を比較すると、最大凝着力にもあまり差がない。従って、粘弾性仕事が粘性によるエネルギー散逸をよび的確に表現していると結論できる。

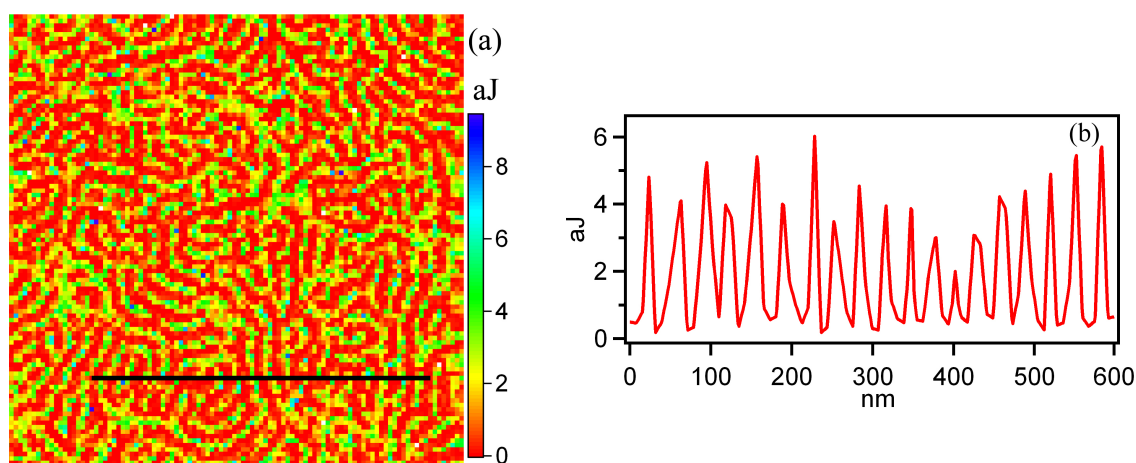


図 6-9 (a)FVモードによる粘弾性仕事像と(b)が(a)上のラインに沿っての粘弾性仕事のプロファイル

6.3 結論

- ・タッピングモードによって、ナノメートルスケール分解能で試料の表面エネルギー散逸像を定性的に議論できた。しかし、この表面エネルギー散逸の本質は粘性由来だけではなく、凝着ヒステリシスや他のパラメーターを含むことが明らかとなった。

- ・FVモードによっても、タッピングモードと同じ意味でのエネルギー散逸像が得られた。さらに、粘性由来の粘弾性仕事を他の寄与から分離し、定量的に評価することに初めて成功した。

参考文献

- [1] C. Dietz; M. Zerson; C. Riesch; M. Franke; R. Magerle, *Macromolecules*, **41**, 9259 (2008).
- [2] S. Gourianova; N. Willenbacher; M. Kutschera, *Langmuir*, **21**, 5429 (2005).
- [3] A. N. Netravali; J. M. Caceres; M. O. Thompson; T. J. Renk, *J. Adhes. Sci. Technol.*, **13**, 1331(1999).
- [4] X. P. Wang; X. D. Xiao; O. K. C. Tsui, *Macromolecules*, **34**, 4180 (2001).
- [5] H. Assender; V. Bliznyuk; K. Portyrakis, *Science*, **297**, 973 (2002).
- [6] S. Granick; S. K. Kumar; E. J. Kramer; T. P. Russell; *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, **41**, 2755 (2003).
- [7] R. A. L. Jones; R. W. Richards, *Polymer at Surface and Interfaces*, Cambridge University Press: Cambridge, 1999; Chapter 2.
- [8] J. L. Keddie; R. A. L. Jones; R. A. Cory, *Europhys. Lett.*, **27**, 59 (1994).
- [9] J. A. Forrest; K. D. Veress; J. R. Stevens; J. R. Dutcher, *Phys. Rev. Lett.*, **77**, 2002 (1996).
- [10] Z. H. Yang; Y. Fujii; F. K. Lee; C. H. Lam; O. K. C. Tsui, *Science*, **328**, 1676 (2010).
- [11] Z. Fakhraai; J. A. Forrest, *Science*, **319**, 600 (2008).
- [12] T. Kajiyama; K. Tanaka; A. Takahara, *Macromolecules*, **30**, 280 (1997).
- [13] K. Tanaka; A. Taura; S. R. Ge; A. Takahara; T. Kajiyama, *Macromolecules*, **29**, 3040 (1996).

第7章 ナノ触診 AFM の応用

7.1 生体ハイブリッド材料の評価^[1]

7.1.1 背景

最近、iPS 細胞などの再生医療への利用が現実化する中で、臓器や組織を代替・修復するための組織工学に対する期待が広がっている^[2]。臓器の代わりとなる生体組織を作製するためには、細胞を培養する必要がある、細胞同士の接着剤や成長の足場としての材料が必要不可欠である。

これまでの生体適合性が高い親水性ゲルが足場材料として利用されてきたが、性能に起因する制限のため、筋肉、心臓、神経組織など、十分な強度と高い電気刺激への反応性が求められる生体組織の作製に親水性ゲルを使用することが困難であった^[3]。そのため、親水性ゲルに強度と導電性を付与することを目指し、親水性ゲルとカーボンナノチューブのハイブリッド材料を開発した。

メカノバイオロジーでは、細胞培養の足場の機械的強度と形状が細胞の分化とその他の細胞特性に繋がっていることが知られており、細胞培養の足場としての応用を目指して、さまざまなハイブリッド材料が提案されている。さらにそれらの機械的強度の定量的評価が求められていた。本研究ではゲルにカーボンナノチューブ(CNT)を複合化した試料についてナノ触診 AFM を用いて、弾性率マップを提出し、その知見と細胞培養に関連した各種情報との相関を議論した。

7.1.2 実験

本研究では、ゼラチンメタクリレート (GelMA) と多層カーボンナノチューブを用いた。GelMA ゲルはゼラチンから派生した光架橋ヒドロゲルである。本研究では、誘電泳動 (DEP) を用いて、GelMA ゲル内でCNTを配向させた試料を作製した。図 7-1 は、親水性GelMAゲルとカーボンナノチューブによるハイブリッド材料作製の仕組みを示している。まず、ハイブリッド材料を不均一な電場の中におくことで、ゲル中のカーボンナノチューブの向きを一方向にそろえる。その後紫外線を照射することによって、GelMAゲルを架橋することを行った。最後に、配向したカーボンナノチューブを親水性ゲルと架橋して固定化した試料が得られた。

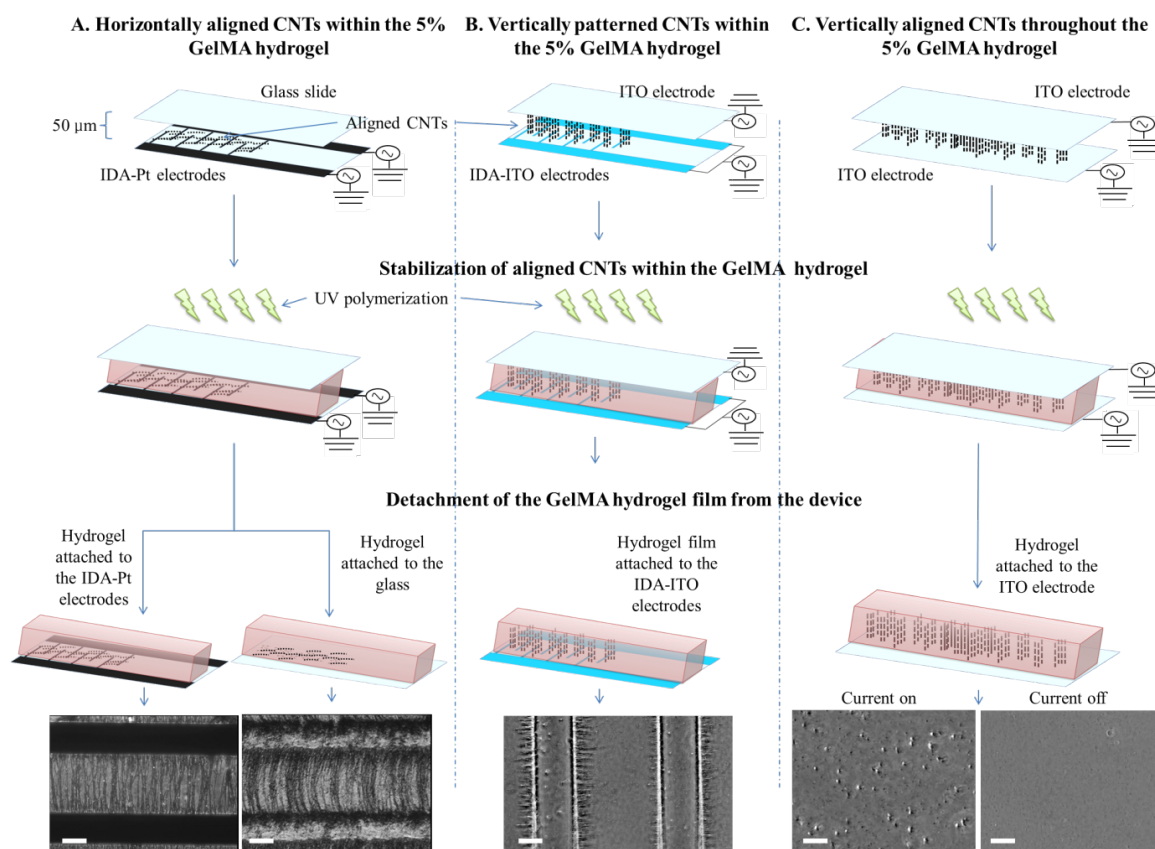


図 7-1 親水性 GelMA ゲルとカーボンナノチューブによるハイブリッド材料作製の仕組み

7.1.3 結果

図 7-2 には、ナノ触診AFMによって得られたハイブリッド材料のナノ力学物性マッピング結果を示した。図中のA、B、Cがそれぞれ、GelMAゲル、ランダムなカーボンナノチューブ・GelMAゲルのハイブリッド、配向性のカーボンナノチューブ・GelMAゲルのハイブリッドである。ナノ触診によって、(A-4)、(B-4)及び(C-4)に示した応力-変形曲線に対し、弾性体接触理論のDMTモデル^[4]によるフィッティングすることで、弾性率像が得られる((A-2)、(B-2)及び(C-2))。弾性率像による弾性率のヒストグラムから、ハイブリッド材料の弾性率が純GelMAゲル材料より高く、特に配向性のカーボンナノチューブ・GelMAゲルでは24 kPa程度の十分な機械的強度が得られた。さらにこの材料を用いて、筋芽細胞を、電気パルスを加えながら培養したところ、ひも状の筋繊維に変化することが確認された。この筋繊維は、従来の細胞工学の技術で作製されたものより効率的に収縮弛緩することが示された。

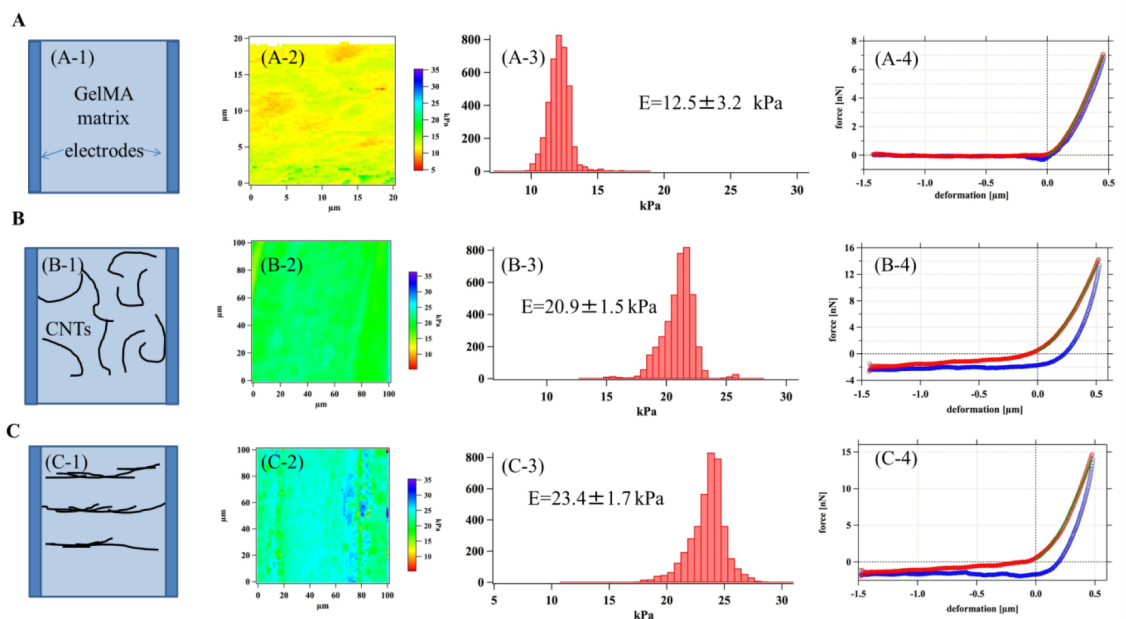


図7-2 ナノ触診AFMによる生体ハイブリッド材料の概略図、ヤング率像、ヤング率ヒストグラム及び応力-変形曲線。AがGelMAゲルで、Bがランダムなカーボンナノチューブ・GelMAゲルのハイブリッド、Cが配向性のカーボンナノチューブ・GelMAゲルのハイブリッドである

7.2 PPE/SBS の界面拡散

7.2.1 背景

異種高分子同士の直接接着技術は接着剤フリーで環境に優しいなどの利点のために、さまざまな領域への応用が期待されている^[5]。またその直接接着のメカニズムの解明は、より良い接着界面の形成のために必要不可欠な情報となる。本研究では接着界面形成のメカニズムの追求を目指し、直接接着が可能なプラスチック(ポリフェニレンエーテル、PPE)とゴム(スチレンブチレンスチレンブロックコポリマー、SBS)の系にナノ触診AFMを応用した。PPEがSBSのPS部分と相溶するために、接触界面付近ではSBS相のモルフォロジーにorder-order相転移が観察される^[6]。透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察結果を図 7-3 に示す。この相構造の変化機構については争論が残っており、その解明の一助とすべくナノ触診AFM観察を試みた。



図 7-3 PPE・SBS界面のTEM像

7.2.2 実験

今回の実験で調べた試料を表 7-1、図 7-4 に示す。

試料の作製手順は下記のようなものである。

- 1、ホットプレスを用い、SBS、PPEをそれぞれ10 mm×10 mm×1 mmの板状サンプルに成形。
- 2、SBSとPPE板状サンプルを二層に重ねて、ホットプレスにセッティング (PPEが下)。
- 3、 4.0×10^7 N/m²圧力の下で、220℃で30分熱圧。
- 4、25℃に急冷し、 4.0×10^7 N/m²の圧力を維持 (3min) し、試料を取り出す。

表 7-1 試料の情報

	M_n	M_w/M_n
SBS(total St.=39.5%)	105,000	1.08
PPE	17,200	2.76

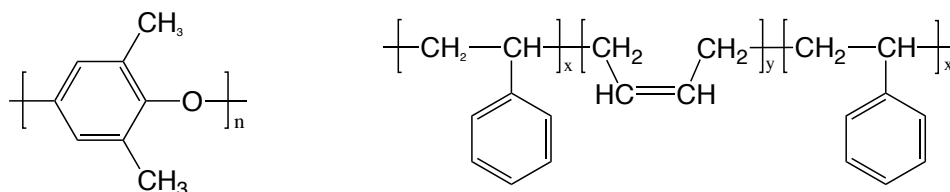


図 7-4 PPE（左）とSBS（右）の化学式

7.2.3 結果

図 7-5 はナノ触診AFMによる界面付近のヤング率像を示す。図中左側がSBS相で、右側がPPE相である。TEM像と同様にモルフォロジーのorder-order相転移（区域B）が観察できる。相構造が変化する界面区域Bのヤング率がSBSの秩序区域Aよりも高いことが分かる。界面区域Bのヤング率の増加は、硬いPPEがSBS内に拡散してorder-order 相転移を引き起こしたことを示唆する。しかし、加工温度220℃は、PPEのガラス転移温度 T_g より低いために、拡散はSBSからPPEへの一方方向のみであるという過去の報告もあり、本研究の実験結果と矛盾する。

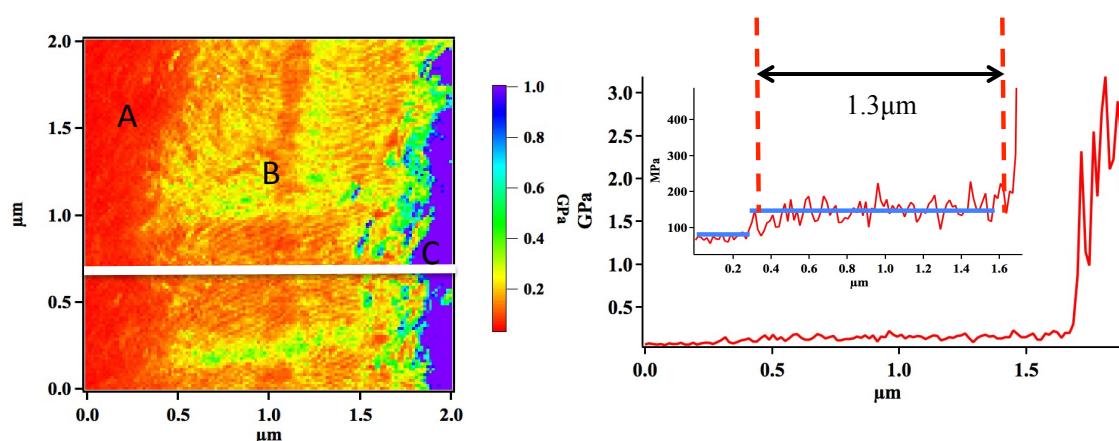


図 7-4 PPE・SBS界面のヤング率像とプロファイル

そのため、界面近傍の元素分析の実験を行った。図 7-5 に示した走査型電子顕微鏡（SEM）によるエネルギー分散型X線分析（EDS）による酸素の変化もPPEがSBSに拡散することを傍証

している。よって、界面接着時の作成温度がPPEのガラス転移温度 T_g 以下であるにも関わらず、PPEがSBS内に拡散してorder-order 相転移を引き起こした可能性がある。このようにTEMでは得られないナノ力学物性の情報が界面拡散メカニズムの解明に有用な知見を与えられとされる。

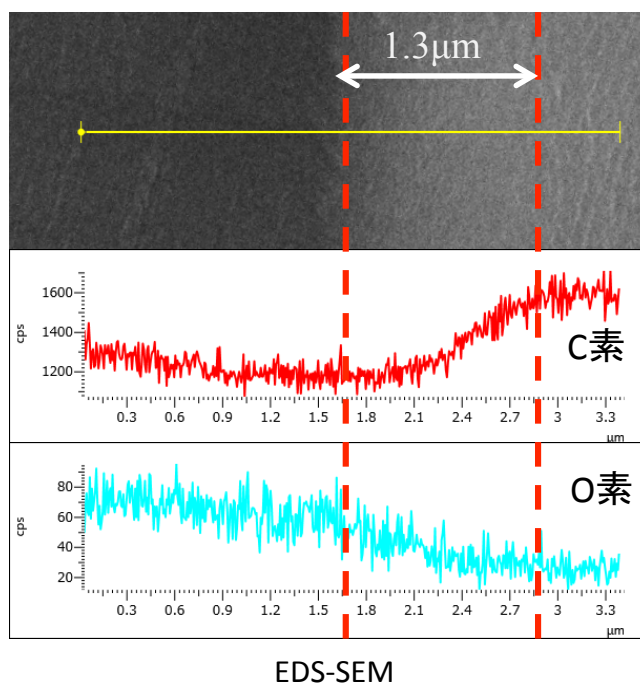


図 7-5 PPE・SBS界面のSEM・EDS像

7.3 結論

ナノ触診技術を生体用材料の機械強度と異種高分子間の界面拡散メカニズムの評価に応用し、それぞれで他の手法では決して得ることのできない情報を得た。

参考文献

- [1] R. A. Javier; S. Ahadian; M. Estili; X. Liang; S. Ostrovidov; H. Kaji; Hi. Shiku; M. Ramalingam; K. Nakajima; Y. Sakka; A. Khademhosseini; T. Matsue, *Adv. Mater.* **25**, 4028 (2013).
- [2] T. Dvir, B. P. Timko, M. D. Brigham, S. R. Naik, S. S. Karajanagi, O. Levy, H. Jin, K. K. Parker, R. Langer, D. S. Kohane, *Nat. Nanotechnol.*, **6**, 720 (2011).
- [3] J. O. You; M. Rafat; G. J. C. Ye; D. T. Auguste, *Nano Lett.*, **11**, 3643 (2011).
- [4] B. V. Derjaguin; V. M. Muller; Y. Toporov, *J. Coll. Interf. Sci.*, **53**, 314 (1975).
- [5] M. Mutsuda; H. Komada. *J Appl Polym Sci*, **95**, 53 (2005).
- [6] M. Mutsuda; H. Omae, *Macromolecules*, **37**, 3346 (2004).

第8章 総括

8.1 総括

・準静的ナノフィッシングによって、温度感応性PNIPAMのコイルーグロビュール転移による単一分子鎖のコンフォメーションと物性の変化を確認し、田中らの協同水和理論および競合的水素結合理論を初めて一本鎖のレベルで実証した。

・動的ナノフィッシングによって、合成高分子PS一本鎖の粘弾性と緩和時間を測定し、その分子量依存性がKirkwood理論で記述できることが分った。さらに、高分子鎖の有効粘度が溶媒粘度とは関係なく、分子鎖と溶媒の相互作用と関係あることを初めて確認した。

・タッピングモードによって、ブロックコポリマーのナノメートルスケールでの試料表面のエネルギー散逸を定性的に議論した。しかし、この表面エネルギー散逸は粘性由来ではなく、むしろ物理凝着や静電気力などの別のパラメーターに支配されていることを確認した。FVモードを活用したナノ触診AFMによっても、タッピングモードと本質的には同じエネルギー散逸像が得られた。さらに、純粋に粘性による粘弾性仕事像を定義することで、粘弾性由来のエネルギー散逸に関する定量的な評価に初めて成功した。

・ナノ触診AFMを生体用材料の機械強度と異種高分子間の界面拡散メカニズムの評価に応用した。

8.2 展望

- ・準静的ナノフィッシングの実験では、感熱高分子PNIPAMに関する理論予測が実験的に検証された。従って、機能性高分子の研究へのさらなる応用が期待できる。特に、動的ナノフィッシングがより豊富な情報を与えるという利点に着目し、さまざまな官能基を有する高分子の内部構造と機能メカニズムの解明を今後の議論の焦点にしていきたいと考えている。

- ・高分子の粘弾性にとって、周波数依存性は重要である。AFMカンチレバーに摂動を加える手法では測定がカンチレバーの共振周波数付近に限定されてしまう。新たなオリジナル手法として、広い周波数範囲で一本鎖粘弾性が計測できるシステムを構築することに興味がある。

- ・ナノ触診AFMによって、応力下にある材料のナノスケール力学物性を解析し、材料の破壊や補強などのメカニズムを解明したいと考えている。

謝辞

本研究は東北大学大学院理学研究科化学専攻浅尾研究室、原子分子材料科学高等研究機構(WPI-AIMR)中嶋研究室において行われました。

本大学に編入させて頂いき、貴重な御助言をくださった元東北大学原子分子材料科学高等研究機構長（東北大学原子分子材料科学高等研究機構 名誉教授）山本嘉則先生に厚くお礼を申し上げます。

博士の期間、さまざまな知識や考え方を御教授いただいた元東北大学原子分子材料科学高等研究機構教授（東京大学名誉教授・東京工業大学名誉教授・現東京工業大学特任教授）西敏夫先生に心から感謝の意を申し上げます。

指導教官である東北大学大学院理学研究科教授浅尾直樹先生には、研究に対する姿勢まで多くの御懇篤なるご助言を頂きました。ここに心より厚く御礼申し上げます。

東北大学原子分子材料科学高等研究機構准教授中嶋健先生には筆者が日本留学して以来、研究の遂行にあたり御指導、御鞭撻を賜りました。また、本人の生活などさまざまな面で助けて頂きました。心から感謝申し上げます。

本論文の審査にあたり有益な御助言を賜りました東北大学大学院理学研究科教授及川英俊先生、東北大学大学院理学研究科教授米田忠弘先生に厚く御礼申し上げます。

本研究の途上で御助言頂きました元京都大学田中文彦教授と実験試料を提供して頂きましたカナダモントリオール大学 Winnik 教授に深く感謝いたします。

東北大学原子分子材料科学高等研究機構助教王東博士にも大変お世話になりました。筆者に色々と御指導を頂き、特に英語論文の修正で助けて頂きました。東北大学原子分子材料科学高等研究機構助教藤波想博士はデータ解析に関して多くのご助言を頂き、筆者の稚拙な質問にも快く答えていただきました。東北大学原子分子材料科学高等研究機構助手劉浩博士、は研究で遭遇したさまざまな問題点や疑問を解決する上で色々な助言頂きました。東北大学原子分子材料科学高等研究機構助手 Nguyen Kim Hung 博士の研究に対する真摯な姿勢に感心しました。深く感謝申し上げます。

技術補助員の伊藤万喜子さんには、試料の作成方法、装置の使い方など様々なことを教えて頂きました。すばらしい性格をもち、3年間の生活が非常に楽しいものとなりました。熊谷明美さんは様々な面でサポートして頂きました。ありがとうございました。

東北大学原子分子材料科学高等研究機構事務の萩田さんには事務的なことでお世話になりました。本当にありがとうございました。

日本留学期間中に、さまざまな面で御助言頂きました大連理工大学教授賓月珍先生、大連理工大学大教授鄭玉斌先生に深く感謝いたします。

最後に、これまでさまざまな面で支援していただきました、両親に心から感謝いたします。